

MÉTHODES DE RECHERCHE
DES
POISONS ORGANIQUES EN TOXICOLOGIE
(Emploi de l'acide métaphosphorique)

THÈSE

présentée et soutenue publiquement le Juillet 1934
devant la Faculté de Pharmacie de Nancy

POUR OBTENIR LE TITRE

de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ

(Mention Pharmacie)

par

GEORGES-EDOUARD VEILLERETTE

Pharmacien de Première classe

Ancien préparateur de Toxicologie à la Faculté

Lauréat de l'Université de Nancy

Médaille d'Or

Né le 1^{er} Avril 1906, à Chaumont

Examineurs	{	MM. R. DOURIS.....	<i>Président</i>
		P. GILLOT.....	<i>Juges</i>
		P. VERNIER.....	

MÉTHODES DE RECHERCHE
DES
POISONS ORGANIQUES EN TOXICOLOGIE
(Emploi de l'acide métaphosphorique)



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547412_0003

MÉTHODES DE RECHERCHE
DES
POISONS ORGANIQUES EN TOXICOLOGIE
(Emploi de l'acide métaphosphorique)

THÈSE

présentée et soutenue publiquement le **Juillet 1934**
devant la Faculté de Pharmacie de Nancy

POUR OBTENIR LE TITRE

de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ

(Mention Pharmacie)

par

GEORGES-EDOUARD VEILLERETTE

Pharmacien de Première classe

Ancien préparateur de Toxicologie à la Faculté

Lauréat de l'Université de Nancy

Médaille d'Or

Né le 1^{er} Avril 1906, à Chaumont

Examineurs	{	MM. R. DOURIS.....	<i>Président</i>
		P. GILLOT.....	<i>Juges</i>
		P. VERNIER.....	



UNIVERSITÉ DE NANCY - FACULTÉ DE PHARMACIE

PERSONNEL ENSEIGNANT

DOYEN HONORAIRE :

M. BRUNTZ, O , , I , O ,  

Recteur de l'Université de Nancy

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. FAVREL, , I 

BRUNTZ, O , , I , O ,  

DOYEN :

M. SEYOT, , , I , , 

ASSESEUR :

M. GILLOT, I , 

PROFESSEURS :

MM. GRELOT,  , I  , 	Pharmacie galénique.
DOURIS, I  ,  , 	Toxicologie.
PASTUREAU, O  , I  ,  .	Pharmacie chimique.
SEYOT,  ,  , I  ,  ,  .	Histoire naturelle.
LASSEUR,  ,  , I  , 	Microbiologie.
GILLOT, I  , 	Matière médicale.
PREVOST, 	Chimie organique.

AGRÉGÉ LIBRE :

M. GIRARDET, , I ..... Chimie et Toxicologie.

CHARGÉS DE COURS :

MM. PREVOST, 	Chimie minérale et Minéralogie.
GRELOT,  , I  , 	Hydrologie.
PASTUREAU, O  , I  ,  .	Chimie biologique.
DONZELOT.....	Physique.
VERNIER, I 	Zoologie.
SIMONNET, I 	Législation et Déontologie.
GILLOT, I  , 	Pharmacotechnie.
CORDEBARD, I  , 	Analyse chimique.
SEYOT,  ,  , I  ,  ,  .	Hygiène.

CHEFS DE TRAVAUX :

MM. VERNIER, I 	Microbiologie et Parasitologie.
MEUNIER.....	Pharmacie.
CORDEBARD, I  , 	Chimie et analyse chimique.
STEIMETZ.....	Micrographie.
DONZELOT (ch. de trav.).....	Physique.
DIVOUX (chargé de trav.).....	Chimie biologique et Toxicologie.

SECRÉTARIAT :

M. E. TRIBOLET, I ..... Secrétaire.

La Faculté a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend ni les approuver ni les imputer.

A MES PARENTS

Témoignage de profonde affection.

A MA FEMME
ET A MES ENFANTS

Témoignage de profonde affection.

A MON MAÎTRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE

M. LE PROFESSEUR DOURIS

Membre correspondant de l'Académie de Médecine

Hommage respectueux et reconnaissant.

A MES JUGES

M. LE PROFESSEUR P. GILLOT
Professeur de Matière Médicale

M. LE DOCTEUR P. VERNIER
Chargé du cours de Zoologie

Hommage respectueux et reconnaissant.

A TOUS MES MAITRES DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE

MEIS ET AMICIS

HISTORIQUE

La toxicologie des poisons organiques est une science relativement récente. La science de l'empoisonnement au moyen de telles substances est, au contraire, d'origine très lointaine, car elle ne requiert de celui qui la pratique que lâcheté et félonerie jointes à un peu d'observation. Le savant chargé de la dépister et d'en établir la preuve devra, par contre, faire appel à des connaissances botaniques, chimiques et biologiques très précises et très approfondies.

Dès la plus haute antiquité, l'homme a connu les plantes toxiques et en fit usage. Leurs poisons inspiraient aux sages, comme GALIEN, une terreur telle que ce dernier déclarait « qu'il est imprudent de traiter des poisons et d'en faire connaître la composition au vulgaire, qui pourrait en profiter pour commettre des crimes ».

Cependant, chez les Athéniens, la ciguë est instituée poison judiciaire et les symptômes de l'empoisonnement qu'elle provoque ont été décrits très fidèlement dans le récit que fit PLATON de la mort de Socrate.

PLINE rapporte un empoisonnement dû à l'aconit et, dans la littérature antique, la colchique, l'ellébore blanc, la jusquiame et bien d'autres plantes vénéneuses, sont mentionnées comme toxiques redoutables.

DIOSCORIDE, médecin et naturaliste grec, paraît avoir été l'un des premiers à faire œuvre de toxicologue, mais sa toxicologie ne consistait que dans le fait de combattre les symptômes et de faire éliminer le poison par l'administration d'un vomitif.

Si, à certaines époques du Moyen-Age, les empoisonneurs semblent avoir redoublé d'ardeur, aucune méthode de dépistage n'a, par contre, enrichi le domaine de la toxicologie.

Il faut arriver au XIX^e siècle pour voir se réaliser des progrès immenses dans la chimie des alcaloïdes. Vers la fin du XVIII^e siècle, FOURCROY et VAUQUELIN ont extrait les alca-

loïdes du quinquina, alors que DEROSNES et SEGUIN, quelques années plus tard, isolaient la morphine de l'opium. Puis nous voyons s'éclaircir la question des alcaloïdes des strychnées, des colchicacées et des quinquinas, grâce aux beaux travaux de PELLETIER et CAVENTOU. C'est de toutes ces œuvres qu'allait naître la toxicologie moderne.

En 1850, un très illustre savant belge, STAS, imaginait, à propos d'un empoisonnement célèbre par la nicotine, la méthode toxicologique de recherche des poisons organiques qui porte son nom et qui, plus ou moins modifiée, est encore utilisée très fréquemment de nos jours, surtout dans les expertises médico-légales.

INTRODUCTION

Poisons organiques

Le domaine de la toxicologie des poisons organiques serait des plus vastes si l'empoisonnement n'était conditionné par la faculté ou par la possibilité de se procurer un toxique. Aussi est-ce vers les substances organiques courantes que l'expert orientera ses recherches. Il y rencontrera des corps employés en médecine humaine ou vétérinaire, des agents de désinfection ou de désinsection, des produits industriels, soit solvants ou matières premières de synthèse, etc...

Nous nous proposons d'étudier plus spécialement, dans ce travail, la recherche des alcaloïdes, des glucosides et des produits de synthèses des laboratoires de nature plus ou moins alcaloïdique.

Alcaloïdes.

Les alcaloïdes sont des substances organiques basiques, azotées, contenues dans les tissus de certains animaux ou végétaux : *quinine*, *strychnine*, *morphine*, etc...

Leur nature solide ou liquide est liée à la présence ou à l'absence d'oxygène dans leur molécule. S'ils sont solides, certains prennent l'état cristallin ; d'autres ne sont obtenus qu'amorphes.

Certains font dévier le plan de la lumière polarisée, d'autres non et, dans ce dernier cas, il en est d'inactifs, d'autres racémiques. (Voir tableau du pouvoir rotatoire des alcaloïdes naturels, pages 14 et 15).

S'ils jouissent de propriétés pharmacodynamiques intenses, la toxicité redoutable d'un grand nombre est souvent la cause de leur recherche dans les expertises toxicologiques.

La présence de l'azote dans leur molécule leur confère une fonction basique et leur permet de se combiner aux acides pour donner des sels. C'est, d'ailleurs, à l'état de sels que les alcaloïdes existent dans les plantes. Ces sels, pour la plupart, sont solubles dans l'eau et peuvent être obtenus cristallisés. Ils ne sont qu'assez rarement solubles dans les solvants organiques.

L'alcaloïde base, au contraire, est généralement insoluble dans l'eau, mais se dissout dans les dissolvants organiques tels que l'éther, le chloroforme, la benzine, l'alcool amylique, l'éther de pétrole. (Voir plus loin tableau hors-texte de la solubilité des principaux alcaloïdes).

C'est sur ces propriétés de solubilités qu'est basée l'extraction des alcaloïdes, tant industrielle que toxicologique : jouissant de propriétés basiques relativement faibles, l'alcaloïde est déplacé de ses combinaisons salines en milieu aqueux par une base comme la chaux, la magnésiè, l'ammoniaque, les bicarbonates alcalins ou même la potasse ; il est ensuite extrait à l'éther ou à l'aide d'un autre solvant organique approprié. Ultérieurement, des passages répétés en milieu aqueux et acide, puis dans le solvant choisi après alcalinisation, permettent la purification de l'alcaloïde.

Ptomaïnes et Leucomaïnes.

A côté des alcaloïdes, il existe des corps, appelés *ptomaïnes*, qui jouissent de propriétés très voisines. Ce sont de véritables alcaloïdes animaux, prenant naissance au cours de la putréfaction.

Les *leucomaïnes*, produits de dédoublement des protéines sous l'influence de l'activité vitale, possèdent également des propriétés voisines.

L'expert ne doit pas les perdre de vue dans une recherche des poisons végétaux, parce qu'elles constituent une cause

d'erreur possible. Mais, s'il est nécessaire d'en connaître l'existence, il ne faut pas en exagérer l'importance, car elles interviennent très peu en toxicologie pratique.

Glucosides ou hétérosides.

Les glucosides ou hétérosides sont des corps complexes existant dans les tissus de certains végétaux. Leur caractéristique est de se dédoubler sous l'influence des acides ou des alcalis étendus, ou de certains ferments, en donnant deux ou plusieurs produits parmi lesquels on identifie le glucose.

Certains glucosides, comme la *digitaline* ou la *strophantine*, sont très toxiques et se recherchent avec les alcaloïdes.

Il ne faut pas oublier, à leur sujet, qu'il existe des corps d'origine animale, prenant naissance dans la putréfaction et doués de propriétés semblables. Ces corps sont aux glucosides ce que sont les ptomaines aux alcaloïdes, et Ogier (1), qui en a démontré l'existence, les nomme *glucosides cadavériques*.

On recherche aussi, avec les alcaloïdes :

D'autres produits toxiques tirés des organismes animaux ou végétaux, comme des anhydrides d'acides : *cantharidine*, *santonine* ;

Des substances synthétiques dont la nature ou les propriétés se rapprochent plus ou moins des alcaloïdes : *théobromine*, *caféine*, *antipyrine*, *stovaine*, *novocaïne*, *véronals*, *sulfonals*, etc...

La plupart des alcaloïdes et glucosides sont instables en présence de la matière organique en décomposition ; aussi leur destruction en rend-elle fréquemment la recherche infructueuse, surtout dans le cas d'exhumation d'un cadavre de plusieurs mois. Certains auteurs, cependant, ont pu caractériser la strychnine ou la morphine extraites d'un cadavre de plusieurs années.

(1) J. OGIER. *Traité de Chimie toxicologique*, p. 709. O. Doin, éditeur, Paris. 1899.

POUVOIR ROTATOIRE DES ALCALOÏDES NATURELS

ALCALOÏDE	SENS DE LA ROTATION	α (ρ)	SOLVANT	CONCENTRATION	TEMPÉRATURE
Aconitine	dextrogyre	+ 42°	Alcool absolu	2 gr. pour 100 cc	+ 18°
"	lévoyre	— 36°	Benzine	2 gr. pour 100 cc	+ 18°
Adrénaline	lévoyre	— 53°3	Acide sulfurique N/10	1 pour 100	+ 20°
Atropine	racémique				
Hyoscyamine	lévoyre	— 20°8	Alcool absolu	4 pour 100	
Brucine	lévoyre				
Cinchonine	dextrogyre	+ 229°6	Alcool absolu	0.60 pour 100	+ 17°
"	"	+ 263°4	Eau additionnée de 4 molécules de H Cl pour une de cinchonine	1 pour 100	
Cocaïne	lévoyre	— 15°327 + 0.005848 p.	Chloroforme	p. grammes pour 100 cc	+ 20°
"	"	— 29°4	Alcool absolu	2 gr. pour 100 cc	+ 18°
"	"	— 50°6	Benzine	2 gr. pour 100 cc	+ 18°
Codéine	lévoyre	— 135°8	Alcool à 97°	2 gr. pour 100 cc	+ 15°
Colchicine	lévoyre				
Conine	dextrogyre	+ 15°2	Chloroforme		+ 17°
Éméline	lévoyre	— 50°			
Ephédrine	lévoyre	— 6°6			
Ergotine	dextrogyre	+ 335°	Alcool à 95°	0 gr. 50 pour 100 cc	
"	"	+ 70°	Solut ^a aqueuse lactique	3 gr. pour 100 cc	

Hydrastine	lévoyre	— 67°8	Chloroforme	2,50 pour 100 cc	+ 17°
»	dextroyre	+ 127°3	Sol. aqueuse chlorhydr.	4 pour 100 cc	
Morphine	lévoyre	— (124° — 2 p.)	» »	p pour 100 cc	+ 15°
Narcéine	inactive				
Narcotine	lévoyre		En solution neutre		
»	dextroyre		En solution acide		
Nicotine	lévoyre	— 166°			
Papavérine	inactive				
Pelletiérine	dextroyre				
Pilocarpine	dextroyre				
Quassine	dextroyre	+ 37°8	Chloroforme	4 gr. 22 dans 100 cc	+ 18°
Quinine (hydrate)	lévoyre	— 144°54	Alcool à 97°	1 gr. dans 100 cc	+ 15°
» (anhydre)	lévoyre	— 167°5	Alcool absolu	1 gr. 64 dans 100 cc	+ 17°
Spartéine	lévoyre	— 16°4	Alcool		
Strychnine	lévoyre	— 134°	Eau chlorhydrique	1 gr. dans 100 cc	+ 20°
Thébaïne	lévoyre				
Théobromine	inactive				

Picrotoxine	lévoyre	— 29°26	Alcool absolu	4 gr. 1 dans 100 cc	+ 16°
Santonine	lévoyre	— 171°6	Alcool à 90°	2 gr. dans 100 cc	+ 20°

TABLEAU DE LA SOLUBILITÉ DES PRINCIPAUX ALCALOÏDES DANS LES SOLVANTS USUELS

SUBSTANCE	EAU	ALCOOL	ETHER DE PÉTROLE	ETHER	CHLOROFORME	ALCOOL AMYLIQUE	BENZINE	SULFURE DE CARBONE
Aconitine	1 pour 4431 à 22°	1 p. 37	1 p. 2800	1 p. 63,9	très soluble		1 p. 5,5	
Adrénaline	2 à 3 p. 10.000	très peu soluble	insoluble	insoluble	insoluble		insoluble	insoluble
Atropine	1 p. 500	1 pour 8	1 p. 50 (Codex) très peu (Lebeau)	1 p. 25	1 p. 3 ou 4	très soluble (Chapuis)	1 p. 35	
Berbérine	peu soluble	un peu soluble	insoluble	insoluble			peu soluble	
Brucine	1 p. 850 à froid 1 p. 500 à 100°	1 p. 10	très peu soluble	insoluble	très soluble : 56 %	très soluble	1,66 % (Dragendorff)	
Caféine	1 p. 75 à 15° 1 p. 10 à 100°	1 p. 150 alcool absolu 1 p. 110 alcool à 95° 1 p. 40 alcool à 80°	très peu soluble	très peu soluble	1 p. 9		1 p. 154 à 20°	peu soluble
Cocaïne	1 p. 1300	soluble	soluble	soluble	soluble			
Codéine	1 p. 118 à 15° 1 p. 14 à 100°	soluble	insoluble	soluble	soluble	soluble	soluble	soluble
Colchicine	soluble	très soluble	insoluble	peu soluble	très soluble		peu soluble	
Conine	1 p. 90 à froid moins à chaud	miscible à l'alcool absolu	très soluble	miscible	miscible	très soluble	miscible	un peu soluble
Cinchonine (Dragendorff)	1 p. 3810 à 15° 1 p. 2500 à 100°	0,79 %	très peu soluble	0,29 % à 20°	1 p. 371		soluble à chaud très peu à froid	
Emétine	très peu soluble à froid plus soluble à chaud	très soluble	peu soluble	très soluble	soluble		soluble	
Ephédrine	soluble	soluble		soluble	soluble			
Ergotinine	insoluble	1 p. 200 à froid 1 p. 60 à l'ébullition	insoluble	peu soluble	très soluble			peu soluble
Esérine	peu soluble	soluble		soluble	soluble		soluble	
Hydrastine	insoluble	1 p. 120	insoluble	1 p. 83	1 p. 1,75		1 p. 15,7	
Morphine	1 p. 5000 à 15°	1 p. 265 à 10°5		1 p. 4345 à 10°	1 p. 2500 à 9°4	assez soluble surtout à chaud	1 p. 3450 à 9°4	
Narcéine	1 p. 1285 d'eau froide davantage à 100°	1 p. 945 alcool à 80°	insoluble	insoluble	soluble	soluble	insoluble	
Narcotine	1 p. 25.000 à 20° 1 p. 7.000 à 100°	1 p. 120 1 p. 20 à 1 p.40 à l'ébull.	presque insoluble	1 p. 126 à froid 1 p. 56 à l'ébullition	1 p. 2,69	0,325 %	4,914 %	
Nicotine	miscible	miscible	soluble	miscible	soluble	soluble	soluble	
Papavérine	soluble	assez soluble	soluble à chaud seulement	peu soluble	très soluble	soluble : 1,3 % (Dragendorff)	très peu soluble	
Pelletierine	soluble : 1 p. 20	très soluble		soluble	soluble			
Pilocarpine	peu soluble	soluble	insoluble (Dragendorff)	soluble	soluble		soluble	
Quassine	1 p. 400 à 15°	1 p. 30 alcool à 85°	peu soluble	peu soluble	1 p. 21			
Quinine	1 p. 1670 à 15° 1 p. 902 à 100°	15 % (Chapuis)	peu soluble (Dragendorff)	très soluble : 1 p. 1	17,5 % (Chapuis)	soluble (Chapuis)	soluble (Dragendorff)	soluble
Spartéine	peu soluble : 0,55 %	soluble	insoluble	soluble	soluble		insoluble	
Strychnine	très peu sol. : 1 p. 6660 1 p. 2500 à 100°	insol. dans alcool absolu 1 p. 160 alcool à 90° 1 p. 12 alc. à 90° bouill.	peu soluble	insoluble	1 p. 6	0,55 % (Dragendorff)	1 p. 165	1 p. 500
Thébaïne	presque insoluble	1 p. 10	insoluble	peu soluble : 1 p. 140	soluble	1,67 %	5,27 %	
Théobromine	1 p. 1600 à 17° 1 p. 148,5 à 100°	1 p. 4284 alc. abs. à 17° 1 p. 4050 alc. à 95° à 20°		peu soluble : 1 p. 25.000 à 15°	1 p. 8477 à 20° 1 p. 105 à l'ébullition		insoluble	
Vératrine	très peu soluble : 1 p. 1760	1 p. 4 à 90°	soluble	1 p. 10	1 p. 2	1 p. 10	1 p. 10	
ALCALOÏDES DE SYNTHÈSE ET AUTRES SUBSTANCES								
Antipyrine	très soluble : 1 p. 1	très soluble 1 p. 1,5 alcool à 90°	peu soluble	1 p. 50	1 p. 1		très soluble	peu soluble
Héroïne (Crolas)	presque insoluble	très soluble dans l'alcool chaud		peu soluble	très soluble		soluble	
Novocaïne	1 p. 1	1 p. 30 alcool à 95°		insoluble				
Picrotoxine	peu soluble	soluble		peu soluble	soluble	soluble	soluble	
Santonine	1 p. 5000 à froid 1 p. 250 à 100°	1 p. 280 alcool à 53° 1 p. 10 alc. à 53° chaud	insoluble	1 p. 125 à froid 1 p. 72 à l'ébullition	1 p. 4,35		soluble	
Stovaïne	très soluble	soluble		insoluble				

PREMIÈRE PARTIE

Exposé des principales méthodes toxicologiques d'extraction des poisons organiques

La plus grande difficulté du problème toxicologique consiste, pour l'expert, dans l'extraction d'une très faible quantité de toxique, noyée dans une quantité considérable de substances étrangères. Ce problème peut revêtir trois aspects différents :

Analyse de scellés.

Recherche dans les viscères.

Recherche dans les liquides de l'organisme : sang, urine.

Lorsqu'il s'agit de scellés, l'expert emploiera le plus souvent les procédés industriels courants. Il n'en est plus de même des deux autres groupes d'expertises, pour lesquels des méthodes spéciales ont dû être élaborées. Comme on le verra, la multiplicité de ces méthodes, dont peu sont parfaites, témoigne de la grande difficulté de la question.

Nous empruntons à M. le Professeur Douris (1), en la complétant, la classification suivante :

(1) R. DOURIS. *Chimie Toxicologique moderne* (sous presse).

- A) Méthodes par extraction avec coagulation des matières albuminoïdes. Grandes méthodes classiques. { STAS.
DRAGENDORFF.
STAS-OTTO.
STAS-OTTO-OGIER.
- B) Méthodes par digestion des matières albuminoïdes. { Par des ferments (Paneréatine) : FABRE.
Par autolyse : F. BORDAS et S. BRUÈRE.
Par l'acide trichloracétique : FLORENCE.
Par l'acide métaphosphorique. { DENIGÈS.
GRIGAUT.
DOURIS et VEILLERETTE.
Par le tannin : MAGNIN.
- C) Méthodes par précipitation des matières albuminoïdes. { Par l'acétate ou le sous-acétate de plomb. { FRANÇOIS et MILLON.
NOTTA et LUGAN.
Par le chlorure de plomb : MAGNIN.
Par le chlorure de baryum : CHERAMY et LAGARCE.
Adsorption des matières albuminoïdes par colloïdes minéraux (Al₂ O₃) formés au sein même de la masse. { KOHN-ABREST.
- D) Précipitation à la fois des alcaloïdes et des albuminoïdes par un réactif général. Applicable aux liquides : urines. { Régénération de l'alcaloïde du précipité. { GABRIEL BERTRAND.
DOURIS et PAÏS.
DENIGÈS.
GRANDVAL et LAJOUX.

Ce tableau nous montre la diversité des moyens mis en œuvre pour séparer du poison organique la plus grande partie des impuretés viscérales qui le contenaient. Mais là ne s'arrête pas encore le problème, car à ce stade, l'alcaloïde ou le poison organique en général, ne sont pas encore caractérisables. Ils sont sous forme de sels en solution aqueuse et très diluée, mais une simple évaporation ne nous les livrerait pas, car leur masse est encore infime en comparaison de celle des impuretés vis-à-vis desquelles nous nous trouvons.

Aussi, s'il s'agit d'un alcaloïde, le plus grand nombre des méthodes citées libère-t-il l'alcaloïde base au moyen d'un alcali pour l'extraire ensuite par un solvant approprié.

Choix de la substance alcaline à employer pour libérer l'alcaloïde

Disons de suite qu'en ce qui concerne les alcaloïdes liquides, comme la cicutine ou la nicotine, leurs sels sont dissociables à un tel degré qu'il n'est nullement besoin de faire intervenir un alcali pour leur extraction et qu'ils passent dans les solvants, même en milieu acide. Cependant, dans une recherche spéciale de ces substances, on emploie la potasse pour déplacer l'alcaloïde liquide. D'autres poisons organiques, comme les véronals ou les glucosides, sont également solubles dans les solvants en milieu acide.

Pour libérer les autres alcaloïdes, à quelle substance basique va-t-on s'adresser ? La soude, la potasse, l'ammoniaque, les carbonates et bicarbonates alcalins ont été employés avec succès, cependant chacun d'eux est employé avec avantage dans certains cas particuliers et, dans ces cas, il ne serait pas indifférent de substituer l'un à l'autre. Bien mieux, certaines substitutions risqueraient de compromettre totalement l'extraction de l'alcaloïde envisagé.

Ainsi, dans le cas d'un sel de morphine, et grâce à la fonction phénolique de cet alcaloïde, la soude ou la potasse ne précipiteront pas la morphine base, mais donneront des morphinates alcalins solubles. Guyot (1) ayant étudié, sur un sel de morphine, l'action de l'ammoniaque et du bicarbonate de sodium, trouve que ce dernier a une valeur infiniment supérieure comme agent de libération.

Prenons un autre exemple, celui de la strychnine. Ici, le bicarbonate de sodium nous conduira à un mauvais résultat, car il y aura formation d'acide carbonique maintenant la strychnine en solution. Nous devons nous adresser à l'ammoniaque, mais avec certaines précautions, car si un faible excès précipite l'alcaloïde envisagé, une plus grande quantité risque de le faire repasser en solution.

(1) GUYOT. *Thèse Faculté de Médecine et de Pharmacie, Bordeaux 1929-1930*, page 49.

Cependant, dans la majorité des cas, qu'il s'agisse d'atropine, de cocaïne, de veratrine, d'ergotinine, d'aconitine, etc... le plus grand nombre des auteurs préconisent l'emploi de bicarbonate de sodium.

Choix du dissolvant

Si l'expérimentateur connaît l'alcaloïde à extraire, il devra considérer ses caractères de solubilité dans les différents solvants et choisir le plus apte à opérer la dissolution.

Mais là n'est pas toujours le cas, et dans une marche générale d'expertises, les auteurs se sont appliqués à trouver un dissolvant qui conviendrait pour un grand nombre d'alcaloïdes. Beaucoup de toxicologues, dans ce but, et parmi eux nous pouvons citer STAS, OTTO, OGIER, préconisent l'emploi d'oxyde d'éthyle.

A. — Méthodes par extraction avec coagulation des matières albuminoïdes

Grandes Méthodes classiques

Nous examinerons successivement les méthodes de :

STAS.

STAS-OTTO.

DRAGENDORFF.

STAS-OTTO-OGIER.

Disons cependant qu'il faut voir là, non pas tant quatre méthodes bien distinctes que quatre groupes de méthodes souvent plus ou moins apparentées et en dérivation desquelles plusieurs auteurs, comme ERDMANN et USLAR, POUCHET, MARCILLE, etc..., ont imaginé des modifications diverses.

Nous indiquerons donc, chemin faisant, les modifications qui nous paraissent devoir retenir l'attention.

METHODE DE STAS (1)

STAS imagina sa méthode en 1850, à propos d'un empoisonnement par la nicotine (affaire BOCARMÉ). Cette méthode est fondée sur les trois points suivants :

- 1° Solubilité dans l'eau et dans l'alcool des tartrates d'alcaloïdes ;
- 2° Décomposition de ces sels par les alcalis ou les bicarbonates alcalins ;
- 3° Solubilité dans l'éther des alcaloïdes ainsi libérés.

Le mode opératoire est le suivant : on réduit les viscères en menus fragments, on acidifie par l'acide tartrique et on met à digérer dans de l'alcool à 95°, au bain-marie vers 60°. On filtre avec expression et on évapore à basse température pour éliminer l'alcool. Le liquide aqueux, après nouvelle filtra-

(1) STAS : *Annalen der Chemie und Pharmacie*, t. 84, p. 379 ; 1852.

tion, est concentré à basse température, puis on lui ajoute de l'alcool absolu précipitant des impuretés. Après nouvelle évaporation, on étend d'eau et alcalinise par le bicarbonate de sodium. On extrait alors à l'éther l'alcaloïde ainsi libéré : l'évaporation de cet éther fournit l'alcaloïde base, qu'il est facile de faire passer à l'état de sel par addition de quelques gouttes d'acide dilué.

Remarquons cependant que si la morphine amorphe est soluble dans l'éther, sa solubilité est très atténuée lorsqu'elle est cristallisée. D'autre part, certains sels d'alcaloïdes ne sont pas solubles dans l'alcool. En troisième lieu, les glucosides n'ont aucune part dans cette méthode.

METHODE D'ERDMANN ET USLAR (1)

Pour parer aux deux premiers inconvénients de la méthode précédente, ces auteurs ont imaginé le mode opératoire que voici : On fait deux digestions successives des matières pulvérisées dans de l'eau acidulée par HCl, au bain-marie, vers 60-80°. Après filtration, on libère les alcaloïdes par l'ammoniaque, on évapore à siccité et extrait par l'alcool amylique chaud. On purifie l'alcaloïde par passages successifs dans l'eau acidulée par l'acide chlorhydrique et dans l'alcool amylique en milieu ammoniacal.

Cette méthode présente un avantage lorsqu'il s'agit de l'extraction de la strychnine et de la morphine, alcaloïdes très solubles dans l'alcool amylique et relativement peu solubles dans l'éther.

GUYOT (2) fait cependant remarquer que les passages répétés dans l'eau, puis dans l'alcool amylique, de la morphine en vue de sa purification, font subir à cet alcaloïde des pertes considérables.

Un autre inconvénient est, pour l'expérimentateur, l'emploi

(1) ERDMANN et USLAR : *Annalen der Chemie und Pharmacie*, t. 120, pp. 121 et 360 ; 1861.

(2) GUYOT : *Contribution à l'étude toxicologique de la morphine*. Thèse Pharmacie, Bordeaux 1929, p. 62.

de l'alcool amylique en grande quantité, lequel est toujours très pénible à respirer et d'une évaporation difficile. De plus, comme nous l'avons constaté plus loin, l'alcool amylique dissout des ptomaïnes, souillant le résidu alcaloïdique.

METHODE DE STAS-OTTO (1)

OTTO a donné de la méthode de STAS la modification suivante :

Le liquide aqueux que l'on a purifié par addition d'alcool absolu, filtration et évaporation, est traité directement par l'éther, tout d'abord sans alcalinisation. Le rôle de cet éther est double.

1° Il enlève des corps non basiques comme les glucosides.

2° Il débarrasse la solution aqueuse d'une foule d'impuretés comme les corps gras, permettant, par la suite, d'obtenir les alcaloïdes à un plus grand état de pureté.

On alcalinise ensuite par le bicarbonate de sodium et extrait par l'éther.

METHODE DE DRAGENDORFF (2)

Cet auteur isole les poisons organiques en divers groupes par l'emploi judicieux de différents solvants. Il fait tout d'abord passer l'alcaloïde à l'état de sulfate en pratiquant, sur les viscères finement divisés, deux digestions successives au bain-marie à 50°, après avoir eu soin d'ajouter de l'acide sulfurique étendu. Les liqueurs sulfuriques sont réduites à un faible volume par évaporation et privées d'une grande partie de leurs impuretés albuminoïdes par précipitation effectuée au moyen

(1) STAS-OTTO : *Annalen der Chemie und Pharmacie*, t. 100, p. 44 ; 1856.

(2) DRAGENDORFF : *Pharm. Zeitschrift f. Russland*, t. 5, p. 85, et t. 6, p. 633.

DRAGENDORFF : *Manuel de Toxicologie*, 2^e Ed. française, p. 159 et 196. Flavy, éditeur, Paris ; 1886.

d'alcool à 95°. On chasse l'alcool par distillation, on étend le résidu d'eau et on épuise ce liquide acide successivement par :

- 1° l'éther de pétrole,
- 2° la benzine,
- 3° le chloroforme.

On alcalinise alors par l'ammoniaque et on procède à de nouveaux épuisements par :

- 1° le pétrole léger,
- 2° la benzine,
- 3° le chloroforme,
- 4° l'alcool amylique.

L'alcaloïde est caractérisé dans le produit d'évaporation de ces divers solvants.

Cette méthode, qui paraît séduisante de prime abord, prête cependant à quelques critiques. La première, signalée par DRAGENDORFF lui-même, est la formation d'émulsions, très longues à se séparer, surtout lorsqu'on procède à l'épuisement par la benzine. Une autre, et non moins grave, consiste dans le fait qu'un alcaloïde donné, qui doit se dissoudre dans un solvant donné, n'est pas toujours rigoureusement insoluble dans les solvants que l'on a fait agir auparavant; aussi n'est-il pas rare qu'un alcaloïde se retrouve dans deux ou plusieurs groupes différents. La quantité totale d'alcaloïde étant fractionnée, sa caractérisation en est rendue plus pénible.

D'autres reprochent à cette méthode de donner un sel d'alcaloïde moins pur qu'on l'obtiendrait par la méthode de STAS. Mais ils reconnaissent que, par la suite, le résidu alcaloïdique base est plus pur lorsqu'il est obtenu au moyen d'un solvant anhydre, comme la benzine ou le chloroforme, que lorsqu'on fait appel à l'éther. Aussi, POUCHET, MARCILLE et OGIER (1) ont-ils proposé d'obtenir d'abord l'extrait alcoolique de la méthode de STAS et de poursuivre l'extraction de l'alcaloïde par la technique de DRAGENDORFF plus ou moins modifiée.

(1) OGIER : *Traité de Chimie toxicologique*, page 517. Octave Doin, éditeur, Paris ; 1899.

METHODE DE STAS-OTTO-OGIER

OGIER (1) emploie la méthode de Stas-Otto, à laquelle il fait subir quelques modifications. Nous avons eu maintes fois l'occasion d'expérimenter ce procédé avec notre maître, le professeur DOURIS (2) et, nous en étant inspiré en partie dans nos recherches personnelles, nous allons l'exposer un peu en détail, tel que nous l'avons pratiqué au laboratoire de toxicologie.

On broie les viscères assez finement au hachoir, et on les introduit dans un matras avec une certaine quantité d'alcool à 95°, après les avoir acidifiés par l'acide tartrique. On met à digérer au bain-marie à 60° pendant 10 à 12 heures, puis, après refroidissement, on filtre avec expression. On élimine l'alcool par distillation dans le vide à basse température (35 à 40°) et on arrête la distillation quand le résidu a une consistance sirupeuse. On ajoute alors de l'alcool à 95°, qui précipite des matières albuminoïdes et impuretés diverses, lesquelles sont éliminées par une nouvelle filtration. Alors on chasse l'alcool par distillation, comme précédemment, et purifie à nouveau le résidu par une nouvelle addition d'alcool. On poursuit ainsi ces opérations jusqu'à ce qu'une addition d'alcool ne précipite plus le résidu de la précédente distillation et on s'arrange pour que la dernière précipitation soit effectuée, non pas avec de l'alcool à 95°, mais avec de l'alcool absolu. Puis le dernier résidu de distillation est débarrassé de toute trace d'alcool par addition d'une petite quantité d'eau et distillation poussée. On procède alors aux épuisements, qui sont faits successivement :

1° Par l'éther de pétrole, qui complète la purification en enlevant des matières grasses, résineuses et colorées.

(1) OGIER : *Traité de chimie toxicologique*, page 506. Octave Doin, éditeur, Paris ; 1899.

(2) DOURIS : *Tableaux d'analyse toxicologique à suivre dans le cas d'une expertise. Bulletin des Sciences pharmacologiques*. Tome 36, p. 379 ; 1929.

2° Par l'éther ordinaire, après décantation du traitement précédent. On obtient ce qu'on appelle improprement l'« *éther acide* ».

3° Toujours par l'éther ordinaire, après décantation de l'éther acide, mais après avoir opéré une alcalinisation par le bicarbonate de sodium. On obtient ainsi l'« *éther alcalin* ».

4° Enfin, si l'on veut effectuer des recherches spéciales, par l'alcool amylique ou le chloroforme.

Si ces quatre épuisements successifs portent sur une solution assez bien purifiée, ce n'est souvent qu'après trois ou quatre additions d'alcool, suivies chaque fois d'une filtration et d'une distillation dans le vide, que l'on parvient à un tel résultat, ce qui constitue des opérations fort longues. De plus, elles sont fort coûteuses, étant donné la quantité élevée et le prix de l'alcool à 95°, et surtout de l'alcool absolu, qui sont nécessaires.

En troisième lieu, Magnin (1) fait remarquer qu'il n'est pas indifférent de chauffer ainsi longtemps le liquide viscéral en présence d'un acide. Certaines albumines se dégradent et ne précipitent plus par addition d'alcool. Elles souilleront donc les résidus alcaloïdiques.

Cependant, à côté de ces inconvénients, la méthode d'Ogier a de grands avantages, entre autres celui de donner malgré tout des produits relativement purs; aussi cette méthode est-elle encore souvent pratiquée aujourd'hui dans les expertises toxicologiques.

(1) MAGNIN : *Journal de Pharmacie et de Chimie* [S¹e 8]. Tome 5, p. 317. 1927.

B. — Méthodes par digestion des matières albuminoïdes

Dans ces méthodes, il s'opère une véritable destruction de la matière organique.

Cette destruction est obtenue par divers procédés :

I° *Par des ferments*. — FABRE (1) opère la protéolyse aseptique des viscères par l'action diastasique de la pancréatine. Les organes pulpés sont portés à l'ébullition avec de l'eau distillée, puis, après retour à 50°, l'auteur fait ajouter de la pancréatine dans la proportion de 2 % de pulpe. Après douze heures à l'étuve à 50-55°, la protéolyse est complète et il ne reste plus qu'à traiter par les solvants usuels, en milieu acide d'abord, alcalin ensuite, après avoir porté à l'ébullition et filtré. D'après FABRE, le rendement n'est jamais inférieur à 80 % et les manipulations beaucoup plus rapides et aisées que par la technique de STAS-OTTO.

II° *Par autolyse*. — F. BORDAS (2) et S. BRUÈRE (3) ont opéré une protéolyse de matières viscérales par fermentation microbienne. D'après leurs expériences, 620 gr. de matières organiques (fœtus d'animaux) ont été liquéfiés dans du fumier, en 456 heures, par l'action des microbes extérieurs à l'animal. Ces auteurs ont étudié successivement l'influence des ferments de l'urée, des bacilles intestinaux et des micro-organismes des fermentations cellulosiques. Leurs travaux démontrent la préférence à donner aux ferments de l'urée pour réaliser, avec l'aide de l'humidité et d'une température appropriée, une destruction rapide de la matière organique.

(1) FABRE : *Bull. des Sciences pharmacologiques*. Sur une nouvelle méthode d'extraction des alcaloïdes ou des divers composés organiques contenus dans les organes. 1925. Tome 32, p. 279.

(2) F. BORDAS : *Etude sur la putréfaction*. Paris. Rueff et Cie ; 1892.

(3) F. BORDAS et S. BRUÈRE : *C. R. de l'Académie des Sciences*, t. 160, p. 847, et t. 161, pp. 34 et 285 ; 1915.

Le problème consiste ensuite dans l'extraction du poison organique par des solvants appropriés.

III° MAGNIN (1) signale une méthode qui, dit-il, lui a donné de bons résultats, tant dans la recherche des poisons minéraux que volatils ou alcaloïdiques. Il détruit la matière organique par le brome et, ayant usé de ce procédé vingt-neuf fois en douze ans pour la recherche des poisons alcaloïdiques, il n'eut chaque fois que des résultats positifs.

(1) G. MAGNIN : *Journal de Pharmacie et de Chimie* [S^{ie} 8], t. 1, p. 333 ; 1925.

C. — Méthodes par précipitation des matières albuminoïdes

I. PAR L'ACIDE TRICHLORACÉTIQUE

MOOG (1) ayant préconisé la défécation des sérums sanguins par addition d'un volume égal d'acide trichloracétique à 20 %, FLORENCE (2) s'en est inspiré pour éliminer les matières albuminoïdes d'un liquide quelconque (lait, sang, liquide viscéral) au cours de la recherche des poisons organiques. Il a, au préalable, étudié la solubilité de quelques trichloracétates d'alcaloïdes.

Dans le cas d'un sérum, on malaxe au pilon parties égales de sérum et d'acide trichloracétique à 20 %. Puis on porte un quart d'heure au bain-marie à 35° et, sur le filtrat, on procède aux épuisements par l'éther, d'abord en milieu acide, puis en milieu alcalin.

Dans le cas de viscères, ceux-ci sont broyés, puis additionnés d'acide trichloracétique à 20 %. Après malaxage au pilon, on porte quinze minutes au bain-marie à 35°, puis on filtre. On reprend le coagulum par un peu d'acide trichloracétique à 5 %, filtre et, sur l'ensemble des filtrats, on opère les extractions, d'abord par l'éther de pétrole, ensuite par l'oxyde d'éthyle en milieu acide et alcalin.

Par cette méthode, l'auteur a retrouvé 91 % de quinine dans du lait, 89 % de strychnine dans des organes, et 84 % de véronal dans un sérum sanguin.

Cette méthode, de par sa simplicité et sa rapidité, est donc assez séduisante. LEBAT et GUYOT l'ont employée avec succès pour l'isolement de produits alcaloïdiques.

Cependant, SCHOofs (3), à qui elle a donné également de

(1) MOOG : *Bull. Soc. Chimie de France* [S¹e 4], t. 44, p. 944 ; 1912.

(2) FLORENCE : *Bull. Soc. Chim. de France*, t. 44, pp. 1097 et 1242 ; 1927.

FLORENCE : *Annales de Médecine légale*. Paris, Baillières. Mars 1924.

(3) SCHOofs : *Bulletin de l'Académie royale de médecine de Belgique*. Année 1927, p. 832.

bons résultats dans la recherche de la gènesérine, de la strychnine, de l'atropine, de l'hyoscyamine et de la nicotine, fait remarquer qu'il ne faut la suivre qu'à bon escient. Pour bon nombre d'alcaloïdes, on se heurte en effet à l'insolubilité plus ou moins grande du trichloracétate d'alcaloïde dans la solution d'acide trichloracétique.

C'est ainsi qu'en ajoutant à une solution à 0,1 % d'alcaloïde un volume égal d'acide trichloracétique à 20 %, on obtient un précipité avec : aconitine, aspidospermine, berberine, curare, delphinine, émétine, narcotine, papaverine, oxyacanthine, quinine, quinidine, quinoïdine, sanguinarine, veratrine, acoïne, holocaïne. L'expérience refaite avec de l'acide trichloracétique à 10 % donne encore un précipité avec : aconitine, berberine, curare, delphinine, émétine, oxyacanthine, quinoïdine, sanguinarine, acoïne, holocaïne. A 5 %, l'acide trichloracétique donne encore un louche avec ces substances.

Il sera prudent, si on emploie la méthode de défécation par l'acide trichloracétique dans la recherche médico-légale des alcaloïdes, d'éviter une trop forte concentration en solution trichloracétique.

II. MÉTHODES DE PRÉCIPITATION PAR L'ACIDE MÉTAPHOSPHORIQUE

La défécation par l'acide métaphosphorique ayant inspiré pour une large part notre expérimentation personnelle, nous nous étendrons plus longuement sur les méthodes qui lui sont tributaires, tant au point de vue biologique que toxicologique.

Auparavant, rappelons quelques notions fondamentales sur les caractères de l'acide métaphosphorique et de ses sels.

Acide métaphosphorique et métaphosphate de sodium

Nous rappelons que les trois acides phosphoriques sont :

l'acide orthophosphorique : $\text{PO}_4 \text{ H}_3$

l'acide pyrophosphorique : $\text{P}_2 \text{ O}_7 \text{ H}_4$

l'acide métaphosphorique : $\text{PO}_3 \text{ H}$.

En réalité, il n'y a pas un seul acide métaphosphorique,

mais une série de polymères $(\text{PO}_3\text{H})^n$ dont l'indice n de coordination varie le plus souvent entre 1 et 6.

On peut obtenir un acide métaphosphorique soit par déshydratation de l'acide ortho à 300° , ou par calcination des orthophosphates d'ammoniaque, ou encore par action de POCl_3 sur PO_4H_3 à chaud.

Les acides métaphosphoriques ont l'aspect vitreux ; on ne peut les faire cristalliser. Ils sont solubles dans l'eau, mais les solutions s'altèrent rapidement en donnant de l'acide orthophosphorique. Cette transformation est activée par la concentration, l'élévation de température et la présence d'un acide fort. (MONTMARTINI et EGIDI) (1).

L'acide métaphosphorique se distingue des acides ortho et pyrophosphorique en ce que, seules, ses solutions coagulent l'albumine. *

Au laboratoire, nous obtenons l'acide métaphosphorique par action d'un acide (acide chlorhydrique ou acétique) sur le métaphosphate de sodium.

Le métaphosphate de sodium du commerce est un sel translucide, d'aspect vitreux. On ne peut l'obtenir cristallisé. Il se forme dans la calcination à 300° de l'orthophosphate monosodique, suivant la réaction :



Il est bien probable que cette réaction ne donne pas le monométaphosphate, mais un polymère $(\text{PO}_3\text{Na})^n$.

PASCAL (2) a préparé le monométaphosphate de sodium en faisant réagir, à basse température, l'éthylate de sodium sur l'hexamétaphosphate d'éthyle.

Le métaphosphate de sodium du commerce est soluble

(1) MONTMARTINI et EGIDI : *Gazzet. Ch. ital.*, t. 31, p. 394 ; 1901.

(2) P. PASCAL : *Bull. de la Soc. Chim. de France*, t. 33, p. 1611 ; 1923.

* Monsieur le Professeur Travers a démontré que l'acide monométaphosphorique correspondant rigoureusement à la formule PO_3H , ne coagule pas l'albumine.

dans l'eau ; cependant, certains métaphosphates de sodium, polymères plus condensés, sont insolubles (exemple : sel de MADDRELL).

Il ne coagule pas l'albumine.

Contrairement à ce qui se passe pour l'acide métaphosphorique, la transformation du métaphosphate de sodium en orthophosphate semble très faible sous l'influence du temps, et DENIGÈS (1) a pu démontrer qu'une solution de métaphosphate à 5 % pouvait très bien être employée pour précipiter les albumines du lait, même après un an de préparation.

Cet auteur ajoute que l'hydratation de ce sel à chaud est même beaucoup moins rapide qu'on pourrait le croire et, dans les cas pressés où on voudrait en obtenir une solution à 5 %, il conseille d'opérer de la façon suivante : Dans un ballon de 100cm³, mettre 50cm³ d'eau qu'on porte à l'ébullition, puis ajouter 5 gr. 70 de métaphosphate de sodium finement concassé ; au bout de cinq minutes d'ébullition, la dissolution est complète ; ajouter alors 50cm³ d'eau froide et refroidir rapidement le mélange sous un filet d'eau, puis compléter à 100cm³ ; 12 % environ de sel sont transformés en orthophosphate, il en reste donc, dans la liqueur, 5 gr. environ non transformés.

DENIGÈS, le premier, a mis en usage l'action déféquante de l'acide métaphosphorique sur les albumines du lait en vue du dosage du lactose. A cet effet, il emploie une solution de PO³Na à 5 %, dont il libère l'acide par addition d'acide chlorhydrique ou acétique.

CHASSAIGNE (2) utilise le même procédé pour la défécation du sang, lorsqu'il veut en doser les matières réductrices.

CHELLE (3) met également à profit le pouvoir déféquant de l'acide métaphosphorique dans le dosage clinique des hydrates

(1) DENIGÈS : Dosage du lactose dans les laits. *Bull. de la Soc. de Pharmacie de Bordeaux*, t. 33, pp. 50 et 71 ; 1893.

(2) Jean CHASSAIGNE : Contribution à l'étude des matières réductrices du sang. *Thèse Bordeaux. Fac. Méd. et Pharm.*, année 1898-1899.

(3) CHELLE : *Bull. de la Soc. de Pharm. de Bordeaux*. Tome 54, page 193 ; 1914.

de carbone et de l'acide lactique du sang et des autres liquides de l'organisme.

P. CRISTOL (1), effectuant le dosage de l'azote total non protéique du sérum, étudie comparativement les désalbuminations trichloracétique et métaphosphorique.

Toujours dans le domaine de la chimie biologique, A. GRIGAUT et P. ZIZINE (2) effectuent sur le sang une étude de la désalbumination par l'acide métaphosphorique. Ces auteurs ont étudié l'influence de l'acidité du milieu et précisé les notions d'acidité maxima et d'acidité minima dans la technique de la désalbumination métaphosphorique. De leurs travaux, ils tirent les conclusions suivantes, à savoir que « l'acide métaphosphorique offre sur l'acide trichloracétique un avantage énorme, c'est celui de fournir un filtrat de sérum qui se prête au dosage, non seulement de l'urée, de l'azote non protéique, de l'acide urique, mais encore des sucres, de la créatine et de la créatinine ». Ainsi, sur une même prise d'essai, peuvent être déterminées toutes les substances précédentes.

R. DOURIS, Ch. MONDAIN et J. BECK (3), établissant une comparaison entre les sérums normaux et syphilitiques, font flocculer les sérums par addition d'une solution d'acide métaphosphorique qu'ils emploient dans les concentrations comprises entre 1,5 N et N/100.

R. DOURIS et J. BECK (4) ont tenté d'appliquer la défécation métaphosphorique à un sérum en vue de la recherche de l'acide oxalique, mais ils ont abouti à un échec par suite de la formation d'orthophosphate calcique dans la suite des opérations.

En toxicologie, la précipitation des matières albuminoïdes par l'acide métaphosphorique est beaucoup moins courante. Cependant, nous voyons employer cette technique par R. DOURIS

(1) P. CRISTOL : *Bull. de la Soc. de Chimie Biol.*, tome 4, p. 267 ; 1922.

(2) A. GRIGAUT et P. ZIZINE : *Bull. de la Soc. de Chim. Biol.*, tome 4, p. 388 et p. 18 ; 1922.

(3) R. DOURIS, Ch. MONDAIN et J. BECK : *C. R. de la Soc. de Biologie*, tome 104, p. 347 ; 1930.

(4) R. DOURIS et J. BECK : *C. R. de la Soc. de Biologie*, tome 107, p. 578 ; 1931.

et Mlle M. PLESSIS (1) pour la recherche *in vitro* ou après intoxication, des chlorates ou des bromates dans le sang ou dans le sérum sanguin.

Nous n'avons pas connaissance que cette méthode ait été employée pour la recherche de poisons organiques dans des liquides viscéraux, c'est pourquoi, à la suite des travaux cités précédemment, notre maître, M. le Professeur Douris, nous a chargé de l'expérimenter dans les cas généraux de recherches.

III. MÉTHODE UTILISANT LA DÉFÉCATION PAR LE TANNIN

Cette méthode, mise au point par MAGNIN (2), avait déjà été tentée par quelques auteurs, parmi lesquels nous pouvons citer SENKOWSKI (3) et KIPPENBERGER (4), ce dernier utilisant une solution glycérinée de tannin à 20 %.

Ce procédé est basé sur le fait que les tannates d'alcaloïdes sont solubles dans un excès de tannin. MAGNIN précipite, par le tannin en solution à 10 %, les albuminoïdes dans la liqueur filtrée résultant de la macération viscérale en milieu acide. Il extrait ensuite l'alcaloïde suivant la technique de DRAGENDORFF, c'est-à-dire par l'éther de pétrole, le benzol et le chloroforme en solutions acides, puis alcalines, puis, en dernier lieu, par l'alcool amylique. Cependant, un inconvénient réside dans le fait qu'une petite quantité de tannin est soluble dans les dissolvants utilisés, particulièrement dans le chloroforme et l'alcool amylique, ce qui constitue une cause de souillure de l'alcaloïde.

(1) R. DOURIS et Mlle M. PLESSIS : *C. R. de la Soc. de Biologie*, tome 107, p. 576 ; 1931.

(2) MAGNIN : *Journal de Pharmacie et de Chimie* [S¹e 8], tome v, p. 316 ; 1927.

(3) SENKOWSKI : GADAMER. *Lehrbuch der chemischen Toxikologie und Anleitung zur ansmittlung der Gifte*. 2^e édition, p. 490. Dandenhsed et Roprecht, éditeurs, Gottingen, 1924.

(4) KIPPENBERGER : GADAMER. *Lehrbuch der chemischen Toxikologie und Anleitung zur ansmittlung des Gifte*. 2^e édition, p. 491. Dandenhsed et Roprecht, éditeurs, Gottingen, 1924.

KIPPENBERGER : BAUMERT. *Lehrbuch der Gerichtchen Chemie*, p. 425 ; 1907.

L'auteur apporta une modification à cette méthode par l'emploi de chlorure de plomb pour éliminer l'excès de tannin. Il s'était assuré, au préalable, de l'insolubilité complète du Cl^2Pb dans les dissolvants employés. La défécation par le tannin, ainsi pratiquée, lui donna des résultats beaucoup plus précis que dans le premier cas.

IV. MÉTHODES PAR PRÉCIPITATION AU MOYEN DE L'ACÉTATE OU DU SOUS-ACÉTATE DE PLOMB

Recherchant l'émétine dans l'urine, FRANÇOIS (1) et MILLON opérèrent au préalable une défécation par l'*acétate neutre de plomb*. Ce sel précipite les phosphates, les urates, les oxalates, les chlorures et d'autres sels, et fixe en partie la couleur. On élimine ensuite l'excès de plomb par le sulfate de soude, et l'alcaloïde, étant demeuré en solution, pourra être libéré et extrait par un solvant approprié. Les émulsions ne sont pas à craindre.

FRANÇOIS, qui n'a opéré que sur l'émétine, pense que sa méthode « semble pouvoir être appliquée à la recherche d'un alcaloïde quelconque dans l'urine ».

En 1885, NOTTA et LUGAN (2), recherchant la morphine dans l'urine d'un morphinomane, défèquent par 1/10 de *sous-acétate de plomb*, précipitant ainsi les matières colorantes et extractives, les acides urique, phosphorique, etc... La morphine a passé sous forme d'acétate. Ils éliminent l'excès de Pb par addition de $\text{SO}_4 \text{H}_2$ au 1/10. Ils extraient ensuite par des solvants appropriés.

V. MÉTHODE UTILISANT LA DÉFÉCATION PAR LE CHLORURE DE PLOMB

MAGNIN (3), utilisant le chlorure de plomb seul, obtient

(1) FRANÇOIS : *Journal de Pharmacie et de Chimie* [7^e S.], t. 16, p. 211 ; 1917.

(2) NOTTA et LUGAN : *Journal de Pharmacie d'Anvers*, t. 41, p. 6 ; 1885.

(3) MAGNIN : *Journal de Pharm. et de Chimie* [8^e S.], t. 5, p. 319 ; 1927.

d'aussi bons résultats qu'avec le tannin et le Cl_2Pb . Il acidifie le liquide viscéral qui contient l'alcaloïde, par SO_4H_2 au $1/5$ et, après macération, il filtre. Dans ce filtrat, il ajoute une solution chaude et concentrée de Cl_2Pb jusqu'à cessation de précipité. Ensuite, il extrait l'alcaloïde.

L'auteur a également fait des essais sur de la viande hachée et peptisée par action de H_2SO_4 au $1/5$, au bain-marie, à la température de $50-60^\circ$. Il obtint de bons résultats.

Cependant, Cl_2Pb étant peu soluble dans l'eau, même à chaud, ce procédé nécessite l'addition d'un grand volume de solution défécante pour précipiter complètement les protéines. On dilue ainsi considérablement l'alcaloïde qui peut exister dans les viscères soumis à l'analyse.

VI. MÉTHODE DE DÉFÉCATION PAR LE CHLORURE DE BARYUM

CHERAMY et LAGARCE (1), utilisant la méthode de STAS-OTTOGIER, ont constaté que les liquides d'extraction obtenus par le traitement des pulpes d'organes sont souvent chargés de lipoïdes, acides gras et sels biliaires dont les qualités émulsionnantes rendent difficile l'épuisement par les solvants volatils. Aussi préconisent-ils, pour se débarrasser de ces produits, d'additionner à la solution provenant de la reprise par l'eau du résidu de l'évaporation de l'alcool tartrique, quelques centimètres cubes de solution de Cl_2Ba à 10 %. Ils éliminent ensuite l'excès de baryum, si besoin est, au moyen d'acide sulfurique étendu. Cette méthode a donné à ses auteurs d'excellents résultats dans la recherche toxicologique des poisons de la série barbiturique.

VII. MÉTHODE PAR ADSORPTION DES MATIÈRES ALBUMINOÏDES PAR UN COLLOÏDE MINÉRAL

KOHN-ABREST (2) s'inspire de la première partie de la mé-

(1) CHERAMY et LAGARCE : *Journal de Pharm. et de Chimie* [8^e S¹e], t. 12, p. 366 ; 1930.

(2) KOHN-ABREST : *Traité de Chimie Toxicologique*, par OGIER et KOHN-ABREST. 2^e édition. Tome 2, p. 100 ; 1924.

thode d'OGIER pour l'obtention de la liqueur renfermant les matières extractives. Puis il préconise l'emploi d'aluminium activé qu'il fait agir sur les liquides hydroalcooliques acides provenant de l'épuisement des viscères. Il obtient une solution de tartrate d'alcaloïde, relativement très pure, dit-il, qu'il épuise ensuite selon la technique de STAS-OTTO.

Bien d'autres procédés ont été tentés, qui ne méritent plus de retenir l'attention en toxicologie moderne. Citons, pour mémoire, les essais de GRAY et LYMANN (1), qui préconisaient l'acide acétique comme agent de défécation des matières albuminoïdes.

THIÉRY (2) opère la défécation du sang, en vue de la détermination de la glycémie, par l'emploi du ferrocyanure double de zinc et de potassium. Bref, si l'on veut utiliser une méthode de purification par précipitation des matières albuminoïdes, on devra choisir très judicieusement cette méthode parmi toutes celles qui ont été mises en œuvre.

BALLS et WOLFF (3) admettent que, dans toute technique utilisant la défécation sous une forme ou sous une autre, pour la recherche toxicologique des alcaloïdes, il se produit une perte en alcaloïde. Cette perte serait due à un phénomène d'adsorption, et son pourcentage serait inversement proportionnel à la quantité d'alcaloïde mise en jeu.

Tout cet exposé nous montre que bien des méthodes d'extraction des poisons organiques sont tributaires d'une technique utilisant un corps déféquant. Il convient d'attribuer à ces procédés une importance beaucoup plus théorique que pratique, et si, de prime abord, leur rapidité paraît séduisante, l'expert toxicologue ne devra les considérer que comme accessoires et être très circonspect à leur égard.

(1) GRAY et LYMANN : CHANDELON. *Traité de Toxicologie*, 1888, p. 119.

(2) THIÉRY : *Journal de Pharmacie et de Chimie* [7^e S.], t. 25, p. 209 ; 1922.

(3) BALLS et WOLFF : *Journal of Biolog. Chemistry*, 1928, p. 379.

**D. — Méthodes par précipitation à la fois des
matières albuminoïdes et des alcaloïdes au moyen
d'un réactif général
Régénération des alcaloïdes**

Ces méthodes ne sont applicables qu'à la recherche de poisons organiques contenus dans des liquides, comme l'urine, le lait ou la salive.

Leur principe est le suivant : L'alcaloïde contenu dans le liquide à examiner est précipité par un réactif général approprié. Il est alors possible de séparer du liquide le précipité formé. Ce dernier, mis en suspension dans un véhicule convenable, il s'agit alors de régénérer l'alcaloïde, pour l'extraire ensuite par un solvant approprié.

Ainsi, il est possible de précipiter l'antipyrine par le réactif de DRAGENDORFF, après avoir acidulé par SO_4H_2 . Le précipité est ensuite décomposé par un mélange de CO_3Na_2 et NaOH , ou mieux, par CO_3Ag_2 , et extrait par le chloroforme.

La cocaïne est passible d'un procédé analogue, qui peut être précieux pour déceler le doping. Le doping, artifice interdit par les codes des courses, consiste dans l'emploi d'excitants susceptibles de donner à un cheval, au moment d'une course, une ardeur factice et momentanée. Le chlorhydrate de cocaïne étant souvent employé pour une telle manœuvre, est décelable dans la salive des chevaux. RIFATWACHDANI (1) recommande de prélever de la salive sur un tampon de coton ou sur un mouchoir de poche et de précipiter par le réactif de Bouchardat. Le précipité obtenu peut être décomposé par Ag_2O humide. La solution filtrée est alcalinisée par NH_4OH et épuisée par l'éther. Le résidu d'évaporation de l'éther, repris par HCl , est évaporé à sec. On obtient des cristaux de chlorhydrate de cocaïne.

(1) RIFATWACHDANI : *Biochemische Zeitschrift*, t. 54, p. 83 ; 1913.

Des méthodes plus générales de régénération de l'alcaloïde ont été proposées par divers auteurs.

I. MÉTHODE DE GABRIEL BERTRAND

Gabriel BERTRAND (1) emploie l'acide silicotungstique ou le silicotungstate de sodium en solution à 5 % ou à 2,5 %. Avec les alcaloïdes, il y a formation de silicotungstates ayant pour formule générale :



composés très stables. La régénération des alcaloïdes s'opère en traitant à froid les précipités par les alcalis même dilués ; le silicotungstate se dissout et la régénération est instantanée ; selon les cas, l'alcaloïde précipite (morphine, strychnine) ou reste en solution. Dans ce dernier cas, des épuisements au moyen d'un dissolvant convenable permettent l'isolement.

Le réactif ne précipite pas les glucosides, tannin, cyanures, mais il précipite avec certains albuminoïdes et avec le glyco-gène.

II. MÉTHODE DE DOURIS (2) ET PAÏS (3)

Ces auteurs précipitent l'alcaloïde sous forme d'iodomercurate. Puis ils arrachent de cette combinaison le mercure par un réducteur énergétique ; ils ont constaté que la poudre de zinc ne constitue pas un réducteur suffisamment puissant, aussi ajoutent-ils du bisulfite de sodium qui, au contact du zinc, donne de l'hydrosulfite de sodium, assurant la réduction cherchée et la séparation rapide et complète du mercure. L'extraction de l'alcaloïde se fait ensuite par addition de chloroforme et alcalinisation.

(1) G. BERTRAND : *Bull. Soc. Chim.* [3^e S.], t. 21, p. 434 ; 1899.

(2) R. DOURIS et PAÏS, E. AGASSE-LAFONT : *Les applications pratiques du laboratoire à la clinique*, 4^e éd., p. 796. Vigot frères, édit., Paris ; 1929.

(3) PAÏS : *Thèse Doctorat en pharmacie*. Nancy 1926, p. 47.

III. MÉTHODE DE GRANDVAL ET LAJOUX (1)

Dans cette méthode, on fait également intervenir le réactif de MAYER, qui donne un iodomercurate d'alcaloïde. Deux techniques sont proposées pour éliminer du complexe iodomercurate d'alcaloïde le métal gênant : la première fait intervenir un excès de cyanure de potassium et de la soude caustique et extraire à l'éther. Dans la seconde, GRANDVAL et LAJOUX décomposent le complexe par addition de sulfure de sodium jusqu'à léger excès, puis après acidification franche, une filtration sépare le précipité de sulfure de mercure. Il ne reste plus qu'à extraire l'alcaloïde dans le filtrat après avoir alcalinisé.

Nous citerons pour mémoire un procédé dû à JUNG-FLEISCH (2) et un autre dû à MAYER (3), qui partent également l'un et l'autre d'une combinaison iodomercurique d'alcaloïde.

IV. MÉTHODE DE DENIGÈS (4)

L'alcaloïde est précipité par le réactif de Bouchardat et ce précipité est séparé par filtration, lavé puis mis en suspension dans de l'eau, où on fait arriver un courant de SO_2 . L'alcaloïde passe à l'état de sulfate soluble et reste tel, comme résidu après évaporation du liquide.

Comme nous l'avons dit au début de ce chapitre, les méthodes tributaires de l'emploi d'un réactif général sont d'un usage relativement restreint dans les expertises toxicologiques. L'expert, cependant, ne les perdra pas de vue, car elles lui rendront des services appréciables, même dans l'analyse de certains scellés.

(1) A. GRANDVAL et H. LAJOUX : *Journ. Pharm. Chim.* [5^e S.], t. 28, p. 154 ; 1893.

(2) E. JUNG-FLEISCH : *Manipulations de Chimie*, p. 928, 2^e édition. Baillière, Paris, 1893.

(3) M. MAYER : *Journal de Pharm. Chim.* [3^e S.¹], t. 46, p. 124 ; 1864.

(4) DENIGÈS : *Précis de Chimie analytique*, 3^e édition, p. 59 ; 1907.

DEUXIÈME PARTIE

Elaboration d'une méthode personnelle pour la recherche toxicologique des poisons organiques

I. ACTION DE L'ACIDE MÉTAPHOSPHORIQUE SUR LES PRINCIPAUX ALCALOÏDES ET GLUCOSIDES AINSI QUE SUR QUELQUES SUBSTANCES MÉDICAMENTEUSES COURANTES

Ayant en vue la purification des liquides viscéraux au cours d'une expertise toxicologique, au moyen de l'acide métaphosphorique, nous avons étudié tout d'abord l'action de cet acide sur les alcaloïdes, glucoside et substances médicamenteuses suivants :

ALCALOÏDES : Aconitine, Atropine, Berbéline, Brucine, Cocaïne, Colchicine, Dionine, Héroïne, Hydrastine, Morphine, Pilocarpine, Quinine, Spartéine, Strychnine, Vétratine. (Nous avons pris le sel le plus courant : chlorhydrate, nitrate ou sulfate, suivant le cas).

GLUCOSIDE : Strophantine.

ANHYDRIDE D'ACIDE : Santonine.

SUBSTANCES DIVERSES : Aniline (Chlorhydrate), Antipyrine, Caféine, Sulfonal, Véronal.

Nous avons fait des solutions au 1/1000 dans l'eau distillée de ces substances, et lorsque la limite de solubilité était plus faible que 1/1000, comme dans le cas de la santonine, nous avons pris une solution saturée à la température du laboratoire.

Nous avons fait, d'autre part, une solution de métaphos-

phate de sodium à 5 % (Métaphosphate de sodium du commerce, lequel nous a servi pour toutes nos expériences). Nous avons opéré la dissolution à froid, afin d'éviter la transformation partielle du métaphosphate en orthophosphate. D'autre part, nous avons toujours expérimenté avec des solutions récentes, datant au maximum de cinq jours, toujours pour éviter l'inconvénient précité.

Première série d'expériences : Emploi d'une solution de métaphosphate de sodium à 5 %.

Dans une première série de tubes à essais : *a, b, c, d...*, nous avons mis :

5cm³ de solution médicamenteuse à 1 p. 1000

5cm³ de solution de PO₃Na à 5 %

Nous n'avons obtenu de précipité dans aucun des tubes.

On notait seulement, avec le sel de quinine, un accroissement sensible de la fluorescence.

Dans une seconde série de *tubes a', b', c' d'...*, nous avons fait agir l'acide métaphosphorique, lequel était produit, au sein du mélange, par décomposition de sa combinaison sodique au moyen de l'acide chlorhydrique. Nous avons mis dans chaque tube :

5cm³ de solution médicamenteuse à 1 p. 1000

5cm³ de solution de PO₃Na à 5 %

0cm³₂₅ de HCl pur.

Dans ces conditions, la quinine a vu sa fluorescence disparaître. Les autres tubes n'ont pas précipité, à l'exception cependant de la berbérine, mais sa précipitation n'était pas due à l'action de l'acide métaphosphorique, mais à la faible solubilité du chlorhydrate de berbérine en milieu chlorhydrique.

En effet, nous avons, en troisième lieu, libéré l'acide métaphosphorique par l'acide acétique dans des *tubes a'', b'', c'', d''...*, constitués de la façon suivante :

5cm³ de solution médicamenteuse à 1 p. 1000

5cm³ de solution de PO³Na à 5 %

0cm³15 de CH³COOH pur.

Cette fois, la berbérine n'a pas donné de précipité, non plus que les autres substances expérimentées.

Comme dans le premier cas, nous avons encore constaté un accroissement de la fluorescence bleuâtre de la quinine.

Une fluorescence bleu verdâtre, que l'on a pu noter avec l'hydrastine, était à peu près la même dans les trois cas.

Cette recherche nous a paru d'autant plus nécessaire, avant d'aborder le problème de la défécation par l'acide métaphosphorique, que SCHOORS, expérimentant la méthode de FLORENCE à l'acide trichloracétique, avait signalé l'inconvénient dû à l'insolubilité de certains alcaloïdes dans l'acide déféquant. Aussi nous sommes-nous demandé si une plus forte concentration en acide métaphosphorique n'offrirait pas le même inconvénient.

Seconde série d'expériences : Emploi d'une solution de métaphosphate de sodium à 10 %.

Nous avons repris les trois groupes d'expérimentations dans les conditions suivantes :

1° *Tubes a, b, c, d...*

5cm³ de solution médicamenteuse à 1 p. 1000

5cm³ de solution de PO³Na à 10 %

2° *Tubes a', b', c', d',...*

5cm³ de solution médicamenteuse à 1 p. 1000

5cm³ de solution de PO³Na à 10 %

0cm³5 de HCl pur.

3° *Tubes a'', b'', c'', d''...*

5cm³ de solution médicamenteuse à 1 p. 1000

5cm³ de solution de PO³Na à 10 %

0cm³3 de CH³COOH pur.

Les résultats se sont montrés en tous points comparables avec ceux décrits précédemment. La berbérine s'est comportée de la même façon, ainsi que la fluorescence de la quinine et de l'hydrastine.

Remarquons cependant qu'ici la colchicine présentait une très légère fluorescence verte dans les tubes des séries *a* et *a''*, fluorescence très accrue dans la série *a'* à réaction chlorhydrique.

Troisième série d'expériences : Emploi d'une solution de métaphosphate de soude à 20 %.

Enfin, une série d'expérimentation conduite de la même façon, mais dans lesquelles on a remplacé la solution à 10 % de métaphosphate par une solution à 20 % (on a, bien entendu, fait varier proportionnellement les quantités d'acides chlorhydrique ou acétique), nous a fourni des résultats semblables.

Ces trois expériences peuvent être résumées dans le tableau ci-contre :

**Tableau résumant les trois séries d'expériences effectuées pour connaître l'action de l'acide
méta-phosphorique ou du mé-ta-phosphate de sodium sur les substances
mé-dica-menteuses envisagées**

SÉRIE DE TUBES	1 ^{re} SÉRIE D'EXPÉRIENCES Solution de PO ³ Na à 5 o/o	2 ^e SÉRIE D'EXPÉRIENCES Solution de PO ³ Na à 10 o/o	3 ^e SÉRIE D'EXPÉRIENCES Solution de PO ³ Na à 20 o/o
Tubes a, b, c, d.	5 ^{cm3} sol ⁿ mé-dica-menteuse à 1 o/o 5 ^{cm3} sol ⁿ PO ³ Na à 5 o/o	5 ^{cm3} sol ⁿ mé-dica-menteuse à 1 o/o 5 ^{cm3} sol ⁿ PO ³ Na à 10 o/o	5 ^{cm3} sol ⁿ mé-dica-menteuse à 1 o/o 5 ^{cm3} sol ⁿ PO ³ Na à 20 o/o
Tubes a' b' c' d'.	5 ^{cm3} sol ⁿ mé-dica-menteuse à 1 o/o 5 ^{cm3} sol ⁿ PO ³ Na à 5 o/o 0^{cm3} 25 HCl pur	5 ^{cm3} sol ⁿ mé-dica-menteuse à 1 o/o 5 ^{cm3} sol ⁿ PO ³ Na à 10 o/o 0^{cm3} 5 HCl pur	5 ^{cm3} sol ⁿ mé-dica-menteuse à 1 o/o 5 ^{cm3} sol ⁿ PO ³ Na à 20 o/o 1^{cm3} HCl pur
Tubes a'' b'' c'' d''	5 ^{cm3} sol ⁿ mé-dica-menteuse à 1 o/o 5 ^{cm3} sol ⁿ PO ³ Na à 5 o/o 0^{cm3} 15 CH³COOH pur	5 ^{cm3} sol ⁿ mé-dica-menteuse à 1 o/o 5 ^{cm3} sol ⁿ PO ³ Na à 10 o/o 0^{cm3} 3 CH³COOH pur	5 ^{cm3} sol ⁿ mé-dica-menteuse à 1 o/o 5 ^{cm3} sol ⁿ PO ³ Na à 20 o/o 0^{cm3} 6 CH³COOH pur

Conclusion.

Ceci est intéressant à deux points de vue :

1° Nous ne craignons pas d'insolubiliser la substance alcaloïdique ou autre en opérant la défécation par l'acide métaphosphorique.

2° Nous pourrons, suivant les cas et si nous voulons éviter une trop grande dilution des toxiques à rechercher, employer une solution déféquante très concentrée, ce qui n'est pas toujours possible avec l'acide trichloracétique.

II. ACTION DU MÉTAPHOSPHATE DE SODIUM ET DE L'ACIDE MÉTAPHOSPHORIQUE SUR LES RÉACTIFS GÉNÉRAUX DES ALCALOÏDES

Nous avons essayé l'action des trois réactifs généraux suivants :

Réactif de BOUCHARDAT,

Réactif de TANRET,

et solution saturée d'acide picrique

sur la solution de métaphosphate de sodium à 5 %. Nous n'avons obtenu aucune précipitation.

Libérant ensuite l'acide métaphosphorique au moyen d'acide chlorhydrique, nous n'avons encore constaté aucun précipité dans le cas des réactifs de BOUCHARDAT et de TANRET. Seul, l'acide picrique a donné un précipité cristallin et non immédiat. Ce précipité n'est pas dû à l'acide métaphosphorique mais à l'insolubilité relative de l'acide picrique dans l'acide chlorhydrique.

En effet, nous avons repris les expériences précédentes, mais en remplaçant HCl par CH₃COOH. Dans ces conditions, l'acide métaphosphorique n'a été précipité par aucun des trois réactifs expérimentés.

Reprenant ces expériences avec des concentrations plus fortes en acide métaphosphorique, d'abord 10 %, puis 20 %, nous avons abouti aux mêmes résultats.

Le tableau suivant résume ces résultats :

RÉACTIF EMPLOYÉ	Solution de $\text{PO}^3 \text{Na}$ à 5 °/o puis à 10 °/o, puis à 20 °/o	Solution de $\text{PO}^3 \text{Na}$ à 5 °/o puis à 10 °/o, puis à 20 °/o + Q. S. HCl pur	Solution de $\text{PO}^3 \text{Na}$ à 5 °/o puis à 10 °/o, puis à 20 °/o + Q. S. CH^3COOH pur
Réactif de Bouchardat	O	O	O
Réactif de Tanret	O	O	O
Réactif acide piorique	O	Précipité dû à HCl	O

Si donc nous faisons réagir le réactif de BOUCHARDAT ou celui de TANRET sur une substance quelconque privée de matières albuminoïdes en présence d'acide métaphosphorique, et que nous ayons une réaction positive, nous avons l'assurance que le précipité sera dû, non pas à l'acide métaphosphorique, mais à la substance à laquelle nous serons alors tenté d'attribuer une nature alcaloïdique.

III. ACTION DES RÉACTIFS GÉNÉRAUX DES ALCALOÏDES SUR LES SUBSTANCES ENVISAGÉES EN PRÉSENCE D'ACIDE MÉTAPHOSPHORIQUE

Après nous être assuré que l'acide métaphosphorique n'était pas précipité par les réactifs de BOUCHARDAT et de TANRET, nous nous sommes demandés si la présence d'acide métaphosphorique n'entravait pas, au contraire, l'action des réactifs généraux sur les substances alcaloïdiques envisagées. Nous avons fait réagir les réactifs précités sur les essais *a, b, c, d*, puis *a', b', c', d'*, et *a'', b'', c'', d''*.

	Essais a, b, c, d, avec métaphosphate à 5 %.		Essais a' b' c' d' avec métaphosphate à 5 %. + Q. S. HCl pur		Essais a'' b'' c'' d'' avec métaphosphate à 5 %. + Q. S. CH ₃ COOH pur	
	R. Bouchardat	R. Tanret	R. Bouchardat	R. Tanret	R. Bouchardat	R. Tanret
Aconitine	+	+	+	+	+	+
Atropine	+	+	+	+	+	+
Berberine	+	+	+	+	+	+
Brucine	+	+	+	+	+	+
Cocaïne	+	+	+	+	+	+
Colchicine	+	—	+	+	+	—
Dionine	+	+	+	+	+	+
Héroïne	+	+	+	—	+	+
Hydrastine	+	+	+	+	+	+
Morphine	+	— louche	+	— louche	+	— louche
Pilocarpine	+	+	+	+	+	+
Quinine	+	+	+	+	+	+
Spartéine	+	+	+	+	+	+
Strychnine	+	+	+	+	+	+
Vératrine	+	+ louche	+	+	+	+ louche
Strophantine	—	—	—	—	—	—
Santonine	—	—	—	—	—	—
Aniline	—	—	—	—	—	—
Antipyrine	+	+	+	+	+	+
Caféine	—	—	+	—	—	—
Sulfonal	—	—	—	—	—	—
Véronal	—	—	—	—	—	—

Nous avons refait ces mêmes séries d'expériences, mais en présence des solutions de métaphosphate de soude à 10 %, puis à 20 %. Nous avons obtenu des résultats identiques.

De l'examen de ce tableau, nous faisons les constatations suivantes :

Dans des conditions ordinaires, le réactif de BOUCHARDAT donne, avec la colchicine, un précipité très abondant, à condition toutefois que la réaction du milieu soit légèrement acide. Or, nous voyons que, en présence de métaphosphate de sodium, mais en milieu rigoureusement neutre, la réaction est positive. Le métaphosphate a donc contribué à la réaction dans la même mesure qu'un acide.

Les sels courants de morphine précipitent très abondam-

ment par le réactif de TANRET. Or, en présence de métaphosphate ou d'acide métaphosphorique, on n'observe plus qu'un trouble très léger et non immédiat. On assiste donc, ici, à l'inverse de l'exemple précédent, à une action empêchante. Avec la vératine, il semble que l'intensité d'action du réactif de TANRET soit amoindrie aussi quelque peu, mais pas d'une façon aussi prononcée.

Dans tous les autres cas, aucun changement n'est apporté dans les réactions, par suite de la présence de l'ion métaphosphorique.

Le tableau précédent montre qu'un métaphosphate d'alcaloïde peut être caractérisé par les réactifs généraux comme n'importe quel sel d'alcaloïde, compte tenu toutefois des particularités ci-dessus mentionnées.

SOLUBILITÉ DU MÉTAPHOSPHATE DE SOUDE

ET DE L'ACIDE MÉTAPHOSPHORIQUE DANS LES SOLVANTS ORGANIQUES

Dans des flacons A-B-C-D-E, nous avons introduit :

A)	Solution de PO_3Na à 10 % :	20cm ³	Ether de pétrole :	30cm ³
B)	»	»	Oxyde d'éthyle :	30cm ³
C)	»	»	Benzine :	30cm ³
D)	»	»	Chloroforme :	30cm ³
E)	»	»	Alc. amylique :	30cm ³

Les flacons étant soigneusement bouchés, on a laissé en contact pendant quelques jours, en agitant vigoureusement de temps en temps. Les dissolvants ont été ensuite séparés par décantation et filtrés sur double filtre de papier, afin d'éliminer toute trace de solution aqueuse. Puis on a mis à évaporer sur des verres de montre des portions de 20cm³ de chacun d'eux. N'ayant obtenu de résidu appréciable dans aucun cas, nous avons lavé chaque verre de montre avec 2 ou 3cm³ d'eau distillée et avons recherché dans ces liquides aqueux les phosphates par la réaction molybdique. Dans tous les cas, cette réaction fut négative, ce qui nous permet de dire que le métaphosphate de sodium est insoluble dans les solvants considérés.

Nous avons refait les mêmes expériences, mais en libérant

l'acide métaphosphorique par de l'acide chlorhydrique pur du commerce. Soit, dans les cinq flacons A¹, B¹, C¹, D¹, E¹ :

- A¹) Métaphosphate de sodium à 10 % : 20cm³. HCl : 2cm³. Ether de pétrole : 30cm³.
B¹) Métaphosphate de sodium à 10 % : 20cm³. HCl : 2cm³. Oxyde d'éthyle : 30cm³.
C¹) Métaphosphate de sodium à 10 % : 20cm³. HCl : 2cm³. Benzine : 30cm³.
D¹) Métaphosphate de sodium à 10 % : 20cm³. HCl : 2 cm³. Chloroforme : 30cm³.
E¹) Métaphosphate de sodium à 10 % : 20cm³. HCl : 2cm³. Alcool amylique : 30cm³.

Après avoir refait les mêmes opérations que précédemment, en ayant soin de pousser l'évaporation assez loin pour éliminer toute trace d'acide chlorhydrique en excès, nous avons constaté que seul le verre de montre de l'alcool amylique E¹ présentait un résidu appréciable, résidu d'allure sirupeuse. Après reprise par l'eau, il a été le seul à donner une réaction positive avec le molybdate d'ammoniaque en milieu nitrique. De ceci, nous concluons que l'acide métaphosphorique est soluble dans l'alcool amylique.

Nous avons refait cette expérimentation avec l'alcool amylique et avons mis à évaporer les 20cm³ prélevés sur un verre de montre taré. Nous avons pesé le résidu, qui était de 0 gr. 06 (température du laboratoire 22°), soit une solubilité de 3 grammes environ par litre.

PURIFICATION DES LIQUIDES DÉFÉQUÉS PAR L'ACIDE MÉTAPHOSPHORIQUE

La défécation étant opérée, nous serons en présence d'une solution aqueuse métaphosphorique d'alcaloïde, laquelle correspond à la solution aqueuse tartrique d'alcaloïde de la méthode d'OGIER, lorsque dans cette méthode on a chassé pour la dernière fois l'alcool par distillation sous pression réduite. On sait que cette solution, surtout lorsqu'il s'agit de viscères putréfiés, est assez fortement colorée et qu'elle contient encore

de nombreuses impuretés de nature non albumineuse, comme des lipoïdes, des cholestérols, des ptomaïnes, etc...

Peut-on agiter directement la solution aqueuse métaphosphorique d'alcaloïde avec les solvants organiques ? Dans des flacons A-B-C-D-E, nous avons introduit :

20cm³ solution de sulfate de strychnine à 1 p. 1000.

10cm³ solution de métaphosphate de sodium à 10 %.

1cm³ acide chlorhydrique pur.

30cm³ de l'un des dissolvants : Ether de pétrole (flacon A).

Oxyde d'éthyle (flacon B).

Benzine (flacon C).

Chloroforme (flacon D).

Alcool amylique (flacon E).

On a laissé en contact pendant plusieurs jours en agitant vigoureusement de temps en temps. Puis on a décanté soigneusement chaque dissolvant, lequel a été filtré pour éliminer toute trace d'eau, et on l'a mis à évaporer sur trois verres de montre, au bain-marie. Sur les différents résidus, on a essayé les réactions de la strychnine.

	R. de Mandelin	Oxyde cérozeux + SO ₂ +H ₂	Bichromate sulfurique
Flacon A. Ether de pétrole	0	0	0
» B. Oxyde d'éthyle	0	0	0
» C. Benzine	0	0	0
» D. Chloroforme	+	+	+
» E. Alcool amylique	+	+	+

Le chloroforme et l'alcool amylique enlèvent donc à la solution aqueuse d'alcaloïde, en présence d'acide métaphosphorique, une certaine quantité de cet alcaloïde. Et même, nous avons pu nous rendre compte, par l'intensité des réactions obtenues, que la quantité de strychnine ainsi enlevée était très importante*. Il ne faudra donc pas songer à une purification par ces deux solvants.

* G. BERTRAND (*Bull. Soc. Chim. de France*, [S^e 4], t. 1, p. 306 ; 1907) a montré que le sulfate de strychnine en solution aqueuse, agité en milieu neutre avec du chloroforme, abandonne intégralement sa strychnine à ce solvant.

Par contre, l'éther de pétrole, l'éther ordinaire et la benzine, employés en milieu acide, peuvent être utilisés sans inconvénient pour cette purification.

Nous ne retiendrons pas la benzine, mais nous nous proposons d'employer, comme dans la méthode de STAS-OTTO modifiée par OGIER, d'abord l'éther de pétrole, puis l'oxyde d'éthyle.

L'ALCOOL AMYLIQUE EST UN SOLVANT DES PTOMAÏNES

EN MILIEU ACIDE

Nous regrettons de n'avoir pu utiliser l'alcool amylique à cette purification des liquides viscéraux, car, comme le montre l'expérience suivante, ce corps est un solvant des ptomaïnes en milieu acide.

80 grammes de viscères humains très putréfiés (exhumés depuis dix-huit mois) ont été hachés et mis à macérer avec de l'acide tartrique au bain-marie à 60° pendant 9 heures. Après filtration, on a distillé dans le vide jusqu'à obtention d'un résidu de quelques centimètres cubes, puis, après avoir ajouté 25cm³ d'eau, on a distillé à nouveau pour chasser toute trace d'alcool. On a repris par un peu d'eau distillée, de façon à amener le volume total à 50cm³. La réaction étant franchement acide au tournesol, nous avons traité par l'alcool amylique dans une ampoule à décantation, en vue de la recherche des ptomaïnes. Cet alcool amylique, soigneusement séparé et filtré, fut mis à évaporer sur trois verres de montre.

Le résidu du premier verre de montre a donné avec intensité une coloration bleue immédiate avec le mélange de Cl₃F^e et de ferri cyanure de potassium.

Sur le second verre de montre, nous avons eu une réaction positive avec l'acide nitrique et la potasse alcoolique.

Le troisième résidu a été réépuisé par l'éther en vue de sa purification, puis cet éther, après filtration, fut agité dans une ampoule à décantation avec de l'acide chlorhydrique au 1/20. La solution aqueuse décantée fut mise à évaporer dans deux verres de montre, ce qui nous fournit des résidus en stries

concentriques. Ces résidus, traités respectivement par les réactifs de BOUCHARDAT et de MEYER, ont fourni des précipités intenses.

Ces quatre réactions, qui caractérisent les ptomaïnes, nous permettent donc d'affirmer que l'alcool amylique en milieu acide les a enlevées au liquide considéré.

Nous verrons que, dans des conditions identiques, l'éther de pétrole n'enlevait pas ces ptomaïnes (Voir page 70). C'est la raison pour laquelle il aurait été intéressant de purifier les liqueurs venant d'être déféquées par PO_3H , au moyen de l'alcool amylique. Mais nous avons constaté que l'alcool amylique dissolvait aussi l'alcaloïde en présence d'acide métaphosphorique.

L'ALCOOL AMYLIQUE EST UN DISSOLVANT DES ALCALOÏDES
EN MILIEU ACIDE

Nous nous sommes demandé si cette solubilité des alcaloïdes dans l'alcool amylique était imputable à l'ion métaphosphorique et si, en son absence, par exemple dans les méthodes de STAS-OTTO ou de DRAGENDORFF, l'hypothèse de son emploi comme agent de purification en milieu acide demeurant possible. Nous avons, pour cela, effectué les opérations suivantes :

1° *Sur la strychnine.*

Dans un flacon bouchant à l'émeri, nous avons introduit :

Sulfate de strychnine à 1 p. 1000	25cm ³
Acide chlorhydrique pur	0cm ³⁵
Alcool amylique	40cm ³

Nous avons laissé en contact pendant quelques jours en agitant énergiquement de temps en temps. L'alcool amylique décanté fut filtré sur double filtre pour éliminer toute trace d'eau, et évaporé au bain-marie sur deux verres de montre. Le premier a donné avec intensité la réaction de MANDELIN, et le second, traité par SO_4H_2 et un cristal de $\text{Cr}_2\text{O}_7\text{K}_2$, a donné des stries violettes caractéristiques.

2° *Sur la morphine.*

Dans un second flacon, nous avons agité pareillement le mélange suivant :

Chlorhydrate de morphine à 1 p. 1000	25cm ³
Acide chlorhydrique pur	0cm ³ ₅
Alcool amylique	40cm ³

L'alcool amylique, après décantation et filtration, fut mis à évaporer sur trois verres de montre.

Sur le premier, Cl_3Fe a donné une coloration bleu vert, qui, par addition de ferri cyanure de potassium, est passée instantanément au bleu intense.

Sur le second, le sulfosélénite d'ammonium (réactif de Schlagdenhaufen) a donné une coloration verte.

Enfin, sur le troisième résidu, le réactif de Marquis (acide sulfurique formolé) a donné une coloration cerise, puis violette, puis bleue.

Ces trois réactions caractérisent la morphine.

Conclusion.

Ces deux expériences montrent que l'on ne peut songer, dans aucun cas, à l'emploi de l'alcool amylique pour purifier des liquides extractifs renfermant des alcaloïdes, car l'alcaloïde passe dans le solvant utilisé au même titre que l'impureté à éliminer.

TROISIÈME PARTIE

Quelques recherches toxicologiques personnelles

- I. Applications du procédé de l'auteur.
- II. Recherche toxicologique du safran.
- III. Recherche des alcaloïdes dans l'urine.
- IV. Recherche des ptomaïnes dans la solution résultant de l'épuisement des liquides viscéraux par l'éther de pétrole. (« Ether de pétrole » de la méthode de STAS-OTTO-OGIER).

I. Application de la défécation par l'acide métaphosphorique à la recherche des poisons organiques

A. RECHERCHE D'UN ALCALOÏDE DANS DES VISCÈRES FRAIS

Première expérience.

A 100 grammes de poumon de bœuf frais, nous avons ajouté 0 gr. 005 de sulfate neutre de strychnine (soit 0 gr. 0039 de strychnine). Nous avons divisé très finement au hachoir et introduit le hachis dans un matras, avec un égal volume d'alcool à 95°, après avoir acidifié par 2 ou 3cm³ de solution saturée d'acide tartrique. Le tout fut alors mis à digérer au bain-marie à 60° pendant 12 heures, puis filtré à chaud avec expression. La liqueur alcoolique obtenue, abandonnée au refroidissement pendant 24 heures, fut à nouveau filtrée sur filtre mouillé, ce qui l'a débarrassée d'une grande partie de ses matières grasses. Nous l'avons ensuite distillée au bain-marie vers 40° et sous pression réduite, et lorsque le résidu ne fut plus que d'une dizaine de centimètres cubes, nous avons ajouté 50cm³ d'eau distillée et poussé encore un peu la distillation, de façon à chasser toute trace d'alcool.

Jusqu'ici, nous avons donc suivi la méthode de OGIER, et nous nous trouvons alors en présence d'une solution aqueuse et acide de tartrate d'alcaloïde contenant une forte proportion de matières albuminoïdes. Nous lui avons ajouté 10cm³ de solution de métaphosphate de sodium à 10 % et 1cm³ d'acide chlorhydrique pur, et avons agité pendant trois minutes avec un agitateur. Dans une expérience analogue, nous avions employé le métaphosphate à 5 %, mais les quantités exigées pour une défécation totale risquent de trop diluer la solution d'alcaloïde. La défécation est immédiate, le mélange prend un aspect caséux et les matières albuminoïdes précipitées ne tardent pas à se déposer alors que surnage un liquide clair.

Nous avons filtré et avons obtenu un liquide limpide, et très légèrement coloré en jaune. Nous nous sommes assurés,

sur quelques centimètres cubes de ce liquide, qu'une nouvelle addition d'acide métaphosphorique ne produisait plus de précipitation sensible.

Pour extraire l'alcaloïde, nous avons employé la méthode de ROUSSIN. Nous avons saturé le liquide aqueux de CO_3K_2 en poudre et nous avons agité en présence d'alcool absolu. Dans ces conditions, l'alcool s'empare de l'alcaloïde et surnage la solution saturée de carbonate de potasse. Il nous fut facile de le décantier et de le mettre à évaporer après filtration pour obtenir un résidu alcaloïdique. Cependant, ce résidu était trop impur pour pouvoir être caractérisé tel quel et une purification s'imposait. Nous l'avons repris par 25cm³ d'acide chlorhydrique au 1/20 et agité avec de l'oxyde d'éthyle, afin d'éliminer les matières grasses. Ensuite, nous avons alcalinisé par de l'ammoniaque et épuisé à trois reprises par 20cm³ de chloroforme.

Les liqueurs chloroformiques, soigneusement filtrées, ont été évaporées sur trois verres de montre, et l'alcaloïde fut caractérisé de la manière suivante :

1^{er} verre de montre : Réactif de BOUCHARDAT.

2^e verre de montre : Réactif solfovanadique.

3^e verre de montre : Réaction à SO_4H_2 et $\text{Cr}_2\text{O}_7\text{K}_2$.

Ces trois réactions, très fortement positives, ont donc démontré très nettement la présence de strychnine.

Deuxième expérience.

Nous avons opéré sur la même quantité de viscères, mais nous ne leur avons ajouté que 1 milligramme de sulfate de strychnine (soit 0 gr. 00078 de strychnine base).

Les opérations furent conduites identiquement jusqu'à l'obtention de la solution aqueuse et acide de métaphosphate d'alcaloïde, c'est-à-dire que nous avons encore opéré la défécation au moyen de l'acide métaphosphorique. Nous avons alors purifié en traitant par l'éther de pétrole, puis par l'éther ordinaire en milieu acide, de façon à éliminer les lipoïdes.

Remarquons que, dans le cas où on appliquerait cette méthode à la recherche d'autres poisons organiques comme les

véronals ou la pilocarpine, ce serait sur ces deux solvants qu'il y aurait lieu de faire porter son attention.

Dans le cas qui nous occupe, après élimination de l'oxyde d'éthyle, nous avons alcalinisé par NH_4OH et extrait au chloroforme. L'évaporation de ce solvant, soigneusement filtré, nous ayant donné un résidu que nous n'avons pas jugé suffisamment pur, nous l'avons repris par 25cm^3 de SO_4H_2 au $1/5$ et extrait à nouveau au chloroforme. Après répartition sur trois verres de montre et évaporation de ce chloroforme, nous avons décelé la présence d'un alcaloïde par le réactif de BOUCHARDAT et identifié avec beaucoup de netteté la strychnine par la réaction de MANDELIN et par la réaction de l'acide sulfurique et du bichromate.

Si le problème posé à l'expert toxicologue consistait dans l'extraction d'un autre alcaloïde, la marche à suivre serait la même.

Il suffirait, pour libérer l'alcaloïde, d'employer une base convenable et de faire un choix judicieux parmi les solvants de l'alcaloïde considéré.

Les deux expériences décrites ci-dessus exposent deux façons d'opérer. Disons cependant que notre préférence va à la seconde, et ceci pour les raisons suivantes :

1° Le carbonate de potasse employé dans la méthode de ROUSSIN fait passer la strychnine à l'état de strychnine soluble en présence d'ions carboniques, et, si la plus grande partie passe dans l'alcool absolu, il en demeure néanmoins une petite quantité dans la solution aqueuse.

2° L'alcool absolu est d'un prix assez élevé.

3° Les résidus alcaloïdiques obtenus avant toute purification nous ont toujours paru beaucoup moins souillés dans la seconde méthode.

Ajoutons cependant que l'application de la méthode de ROUSSIN constitue un procédé plus rapide.

B. RECHERCHE D'UN ALCALOÏDE DANS DES VISCÈRES PUTRÉFIÉS

A 100 gr. de viscères humains putréfiés et hachés (échantillon moyen), nous avons ajouté 2 mllgr. de sulfate de strychnine. Après addition d'alcool tartrique, et digestion au bain-marie à 60° pendant 12 heures, nous avons filtré et chassé l'alcool par distillation sous pression réduite. Nous avons ajouté 50 cm³ d'eau distillée et poussé quelques instants la distillation pour éliminer toute trace d'alcool. Le liquide aqueux obtenu fut déféqué par 10 cm³ de solution de métaphosphate de soude au 1/10 et 1 cm³ HCl pur.

Après filtration, la liqueur obtenue était très colorée ; comme précédemment, nous l'avons purifiée en la traitant par l'éther de pétrole, puis par l'éther en milieu acide, puis nous avons extrait la strychnine par le chloroforme après alcalinisation faible par NH⁴OH.

L'évaporation du chloroforme nous a donné un résidu qu'il ne nous a pas été possible d'identifier tel quel, en raison des impuretés ambiantes.

Nous avons dû reprendre par une solution au 1/20 d'acide sulfurique, extraire au chloroforme après alcalinisation, et recommencer une seconde fois cette purification, après quoi il nous fut possible d'identifier la strychnine par la réaction sulfovanadique et la réaction au bichromate et à l'acide sulfurique.

C. ESSAIS SUR DES VISCÈRES TRÈS PUTRÉFIÉS

Nous avons conduit identiquement des essais de défécation par l'acide métaphosphorique sur des liquides obtenus par le traitement de viscères humains dont l'exhumation remontait à dix-huit mois. Après défécation, les liquides obtenus étaient beaucoup trop colorés, l'acide métaphosphorique ne jouissant pas de qualités déféquantes suffisamment efficaces pour fixer toutes les impuretés. Aussi l'extraction des alcaloïdes devenait-

elle très laborieuse, d'autant plus que, dans ces conditions, les solvants donnaient des émulsions difficilement séparables. D'autre part, les nombreuses purifications auxquelles nous étions tenu, par la suite, de soumettre les résidus alcaloïdiques, compromettaient la caractérisation chimique de ces substances.

Nous avons pensé pouvoir purifier ces liquides viscéraux en y délayant un peu de noir animal, afin d'en fixer la couleur. On nous objectera que le charbon animal jouit également d'un pouvoir fixateur intense à l'égard des alcaloïdes, mais, en nous plaçant en milieu très acide, nous pensions éviter cet inconvénient. Cependant, cette voie ne nous a rien donné et, après traitement par le noir animal et filtration, les liquides viscéraux étaient tout aussi colorés.

Conclusions.

Nous voyons donc qu'il est possible de purifier des liquides viscéraux par la défécation métaphosphorique et d'en extraire ensuite les alcaloïdes qu'ils renferment, si les viscères traités sont frais. S'ils sont putréfiés, la méthode suivie nous a encore donné de bons résultats dans le cas d'une exhumation récente. Mais alors, dans le cas d'une exhumation ancienne, où les viscères humains étaient restés pendant dix-huit mois en contact avec de l'alcool, s'il nous a été possible de précipiter les albumines, nous n'avons pas pu, par contre, fixer la couleur très intense et arriver à une purification suffisante.

Ce procédé ne nous paraît donc pas applicable dans ce troisième cas.

D. EXTRACTION DU VÉRONAL DANS LE SANG

A 100 cm³ de sang frais de mouton, nous avons ajouté 10 ctg. de véronal préalablement dissous dans 20 cm³ d'eau chaude. Deux heures après, nous avons déféqué par l'addition de 25 cm³ de solution de métaphosphate de sodium à 20 % et de 5cm³ d'acide chlorhydrique pur. Le mélange, à ce moment,

devient très épais par suite d'une précipitation intense des albumines ; aussi recommandons-nous d'ajouter 40 à 50^{cc} d'eau distillée.

Après un contact de deux heures, pendant lesquelles il s'est produit une sédimentation, nous avons filtré. Ce filtrat à réaction fortement acide fut introduit tel quel dans une ampoule à décantation, et épuisé par trois fois avec 30 à 40^{cm}3 d'éther ordinaire. Il est bon, dans ces épuisements, de ne pas agiter violemment, afin d'éviter des émulsions qui seraient par la suite gênantes, parce que longues à se détruire.

Les liqueurs éthérées sont réunies et filtrées soigneusement sur double filtre, afin d'éliminer toute trace d'eau et d'acide métaphosphorique. Elles sont ensuite distillées au bain-marie, mais on a soin d'arrêter la distillation lorsqu'il reste encore quelques centimètres cubes de liquide. Ils sont introduits dans un petit cristalliseur et mis à évaporer au bain-marie. Ils ont fourni un résidu cristallin abondant.

Pour identifier ce résidu, nous en avons pris une parcelle afin d'en déterminer le point de fusion, mais alors que le véronal fond vers 190°, nous avons trouvé 177°. Notre corps n'était donc pas suffisamment pur pour être identifié tel quel. Nous avons procédé à sa purification en le dissolvant dans 25^{cm}3 d'eau chaude et en y délayant 2 grammes de noir animal.

Après filtration, cette solution aqueuse fut mise à évaporer sur un verre de montre, et nous avons effectué les réactions suivantes :

1° Quelques cristaux dissous dans très peu d'eau et quelques gouttes de NO³H ont donné, avec le réactif de Millon (azotate mercurique dissous), un abondant précipité blanc, qui s'est dissous dans un excès de réactif.

2° Un centimètre cube de solution aqueuse a donné, avec le nitrate mercurieux, un précipité gris noir.

3° Quelques parcelles du résidu en solution dans la soude diluée ont donné, avec quelques gouttes de teinture d'iode, une coloration verte.

Ces réactions caractérisent le véronal.

Nous avons repris le point de fusion pour achever l'identification.

E. EXTRACTION D'UN ALCALOÏDE DANS LE SANG

A 100cm³ de sang frais de mouton, nous avons ajouté 2 milligrammes de sulfate de strychnine, ce qui correspond à 0 gr. 00156 de strychnine base. Après trois heures de contact, nous avons ajouté 50cm³ d'eau distillée, 25cm³ de solution de PO³ Na à 20 %, et 5cm³ d'acide chlorhydrique pur. La défécation fut la même que dans le cas précédent, et nous avons conduit identiquement les opérations jusqu'à obtention du filtrat acide contenant en solution la strychnine sous forme de sel. Ce filtrat, presque incolore, fut alcalinisé très légèrement par de l'ammoniaque et épuisé par trois fois dans une ampoule à décantation, avec 25cm³ de chloroforme. Remarquons qu'il a été fait choix du chloroforme parce qu'il constitue un bon dissolvant de la strychnine.

Fut-il question de la morphine; par exemple, nous aurions fait intervenir l'alcool amylique, et, dans un cas plus général, celui où l'alcaloïde n'est pas connu à l'avance, nous aurions employé successivement l'oxyde d'éthyle, le chloroforme et l'alcool amylique.

Une remarque identique s'applique au choix de la base mise en œuvre pour libérer l'alcaloïde base : dans certains cas, et suivant la nature de l'alcaloïde, les bicarbonates alcalins seront d'un grand avantage.

Dans l'exemple qui nous occupe, les liqueurs chloroformiques ont été réunies ; elles constituent un liquide trouble par suite de la présence d'une certaine quantité de métaphosphate qui a précipité. Nous avons donc filtré soigneusement sur double filtre, afin d'éliminer ce métaphosphate, ainsi que toute trace d'eau. Le chloroforme fut ensuite réparti sur trois verres de montre et mis à évaporer au bain-marie.

Nous avons alors caractérisé la strychnine par les réactions suivantes :

Sur le 1^{er} résidu : Réaction sulfovanadique.

Sur le 2^e résidu : Réaction à l'acide sulfurique et oxyde céréux.

Sur le 3^e résidu : Réaction à l'acide sulfurique et bichromate.

Ces trois réactions furent très fortement positives, et il est à remarquer qu'elles ont été effectuées sur les résidus résultant d'une première extraction, sans qu'il fût besoin d'opérer aucune purification.

Dans ces recherches de poisons organiques, nous ne doseons pas l'alcaloïde extrait, car, en toxicologie, le fait d'extraire et de caractériser nettement, par au moins deux réactions, un alcaloïde dans des viscères, suffit pour confirmer une hypothèse d'empoisonnement. Voudrait-on doser, d'ailleurs, qu'il suffirait de peser les résidus trouvés.

II. Recherche toxicologique du safran

La caractérisation du safran en toxicologie peut avoir une importance énorme dans le cas d'un empoisonnement par le laudanum.

En 1811, la matière colorante de cette drogue attirait déjà l'attention de BOUILLON-LAGRANGE et VOGEL (1). Plus tard, HENRY (2), FISCHER (3), HILGER (4), ont repris la question, et WEISS (5) a montré que cette matière colorante, nommé *crocine* par KAYSER (6), donne, avec l'acide sulfurique concentré, une coloration bleu indigo passant au violet puis au brun.

La *crocine* est soluble dans l'eau, dans l'alcool dilué (laudanum), peu dans l'alcool absolu et insoluble dans l'éther. Elle se dédouble par hydrolyse en une autre matière colorante rouge foncé, la *crocétine*, insoluble dans l'eau, mais très soluble dans l'alcool fort et dans l'éther, et donnant également la coloration bleue avec l'acide sulfurique.

P. GRÉLOT (7) a donné la marche à suivre pour déceler de petites quantités de safran employées comme colorant dans la liqueur de menthe verte

M. GUERBET (8) a donné un protocole de recherche et de caractérisation du safran dans le laudanum. Il hydrolyse la *crocine* par ébullition du laudanum en présence de HCl dilué. La *crocétine* formée est séparée par filtration, puis dissoute dans l'éther, lequel l'abandonne par évaporation.

(1) BOUILLON-LAGRANGE et VOGEL : *Annales de Chimie*, t. 80, p. 198 ; 1811.

(2) HENRY : *Journal de Pharm. et de Chimie* [6^e S.], t. 7, p. 399 ; 1899.

(3) FISCHER : *Bericht. d. deutsch. Chem. Ges.*, t. 11, p. 198 ; 1888.

(4) HILGER : *Centralblatt*, t. 2, p. 576.

(5) WEISS : *Journ. für practisch Chem.*, t. 101, p. 65.

(6) KAYSER : *Bericht. d. deutsch Chem. Ges.*, t. 17, p. 2230.

(7) P. GRÉLOT : *Bull. des séances de la Soc. des Sciences de Nancy*, [3^e S.], t. 11, p. 173 ; 1910.

(8) M. GUERBET : *Journ. de Pharm. et de Chimie* [7^e S.], t. 21, p. 218 ; 1922.

HYDROLYSE DE LA CROCINE EN PRÉSENCE D'ACIDE TARTRIQUE

Dans les grandes méthodes toxicologiques d'extraction des poisons organiques, les substances traitées ne sont pas en présence d'acide chlorhydrique, comme le requiert le processus indiqué par GUERBET. L'acide employé est un acide organique, particulièrement l'acide tartrique, aussi avons-nous recherché si, dans de telles conditions, le dédoublement de la crocine en crocétine avait lieu.

Dans une fiole conique, nous avons introduit 25 ctgr. de safran pulvérisé et 100cm³ d'eau distillée bouillante. Nous avons maintenu à l'ébullition pendant deux minutes, puis filtré.

Après addition de 10 cm³ de solution saturée d'acide tartrique, ce filtrat fut mis à bouillir pendant vingt minutes. La liqueur colorée, d'abord claire, s'est troublée peu à peu. Nous l'avons filtrée sur filtre sans plis, et ce filtre fut ensuite lavé très soigneusement à l'eau distillée. Il demeurait un dépôt rougeâtre, insoluble dans l'eau, mais qui fut dissous sans difficultés dans l'oxyde d'éthyle et qui est réapparu très abondant après évaporation de l'éther sur un verre de montre. Ce résidu nous a donné, avec une goutte d'acide sulfurique concentré, une coloration bleue très intense.

La crocine a donc été hydrolysée et dédoublée en crocétine à l'ébullition, sous l'influence de l'acide tartrique.

RECHERCHE DU SAFRAN DANS DES VISCÈRES

Nous avons tenté d'appliquer à cette recherche notre méthode de défécation par l'acide métaphosphorique, mais nous avons abouti à un échec.

En effet, après avoir effectué la défécation par l'acide métaphosphorique, il est nécessaire de filtrer afin d'éliminer le précipité caséux de matières albuminoïdes. Mais alors la crocine, qui a été dédoublée en crocétine sous l'influence de

l'acide tartrique, demeure sur le filtre avec les impuretés et ne pourra donc être retrouvée par la suite dans les solvants organiques.

Aussi, avons-nous procédé à une nouvelle expérimentation en suivant la méthode d'OGIER.

A 75 gr. de viscères de bœuf hachés (poumon et foie), nous avons ajouté 5 ctgr. de safran pulvérisé, ce qui correspond à 1cm³ de laudanum de Sydenham. Après l'addition de 150cm³ d'alcool à 95°, et de 2cm³ de solution saturée d'acide tartrique, nous avons porté pendant 9 heures, au bain-marie à 60-70°. Après filtration, nous avons concentré par distillation dans le vide jusqu'à obtention d'un résidu de quelques centimètres cubes. Une nouvelle addition d'alcool à 95° ayant produit une précipitation de matières albuminoïdes, nous avons à nouveau filtré, puis distillé. Enfin, nous avons effectué une troisième opération semblable, mais avec de l'alcool absolu.

Lorsque le résidu de distillation ne fut plus que de 5 à 6cm³, nous avons ajouté 50cm³ d'eau distillée et poursuivi quelque peu la distillation, afin de chasser toutes traces d'alcool.

Dans toutes ces opérations, la crocétine formée se trouve toujours en présence d'alcool à un titre tel que la plus grande partie puisse entrer en solution.

Après la dernière distillation, au contraire, nous nous trouvons en milieu aqueux, mais comme la méthode suivie n'exige plus de filtration, il n'y a là aucun inconvénient.

Nous avons alors procédé aux épuisements, d'abord par l'éther de pétrole, puis par l'éther ordinaire en milieu acide. Après filtration, ces deux solvants, colorés en jaune, furent mis à évaporer sur des verres de montre.

Le résidu d'évaporation de l'éther de pétrole, mis en contact avec une ou deux gouttes d'acide sulfurique, ne nous a donné aucune coloration bleue, mais le résidu d'évaporation de l'« *ether acide* », traité d'une façon analogue, nous a donné la coloration de la crocétine. Pour apercevoir cette coloration, il faut cependant prendre certaines précautions. Lorsqu'on fait tomber la goutte d'acide sulfurique sur un bord du verre de

montre, ce réactif se dirige vers le centre en laissant une large traînée. Comme nous sommes en présence d'une assez forte quantité de graisses, la traînée a un aspect rougeâtre, puis brun, et ce n'est que sur les bords qu'on aperçoit la coloration de la crocétine, coloration apparaissant plutôt violette que bleue, par suite de son contact avec la coloration orangé due aux impuretés. Aussi, pour effectuer cette recherche, y a-t-il intérêt à épuiser très à fond avec l'éther de pétrole, afin d'enlever la plus grande quantité possible de graisses et impuretés diverses à la liqueur extractive ; malgré cela, l'« *éther acide* » ne fournira jamais un résidu de crocétine exempt d'impuretés.

Si la réaction de la crocétine, faite dans les conditions que nous venons d'exposer, est positive, elle fournira à l'expert une présomption d'empoisonnement par le laudanum, et elle pourra lui permettre, dans certains cas, d'orienter ses recherches. Si l'expert était, de plus, en présence de commémoratifs favorables à cette hypothèse, cette réaction constituerait pour son rapport un sérieux appoint. Néanmoins, elle ne peut jamais constituer pour lui la preuve entière de l'empoisonnement par le laudanum, et il devra la compléter par la recherche de l'acide méconique et des principaux alcaloïdes de l'opium.

III. Recherche des alcaloïdes dans l'urine

I. ESSAI DE DÉFÉCATION PAR LE CHLORURE DE BARYUM

Nous avons tenté la défécation d'une urine contenant un alcaloïde par une solution de chlorure de baryum, selon la technique que préconisaient CHERAMY et LAGARCE (1) au sujet de liquides viscéraux. Ce procédé ne nous a pas donné de bons résultats : d'une part, l'urine traitée par cette méthode reste encore très fortement colorée. En second lieu, elle donne, avec les solvants organiques, des émulsions dont la séparation lente prolonge les opérations. Enfin, les résidus alcaloïdiques obtenus ne sont pas très purs, et surtout pas très abondants. Il est probable qu'une partie très appréciable du sel d'alcaloïde est entraînée par le précipité barytique.

II. ESSAI DE DÉFÉCATION PAR LE CHLORURE DE PLOMB

*Application à la recherche de la strychnine dans l'urine *.*

Nous avons vu que MAGNIN (2) a obtenu de bons résultats par la défécation au moyen du chlorure de plomb, appliquée sur des liquides extractifs. Cette méthode, appliquée à l'urine, nous a également fourni des résultats satisfaisants.

A 250cm³ d'urine, nous avons ajouté 2 millgr. de sulfate de strychnine. Nous nous sommes assuré que l'urine présentait une réaction acide au tournesol. Dans le cas où cette urine serait alcaline, soit de par sa nature, ou par suite d'une fermentation plus ou moins avancée, on lui redonnerait une légère acidité par addition de quelques gouttes d'acide chlorhydrique dilué.

(1) CHERAMY et LAGARCE : *Journ. de Pharm. et de Chim.* [8° S¹], t. 12, p. 366 ; 1930.

(2) MAGNIN : *Journ. de Pharm. et de Chim.* [8° S.], t. 5, p. 319 ; 1927.

* M. François a extrait de l'émétine de l'urine en déféquant par l'acétate neutre de plomb. (Voir ci-dessus, page 35).

Nous avons ensuite ajouté goutte à goutte une solution concentrée et chaude de chlorure de plomb, jusqu'à cessation de précipité.

Le précipité, très dense, ne tarde pas à gagner le fond du vase, et si on a ajouté un excès de chlorure de plomb, la plus grande partie précipite par refroidissement.

Nous avons filtré : s'il arrivait que ce filtrat contînt encore du chlorure de plomb en dissolution, on s'en débarrasserait par addition d'acide sulfurique dilué et par une nouvelle filtration.

Nous avons ensuite procédé à l'épuisement de la façon suivante : après avoir alcalinisé très légèrement par de l'ammoniaque, nous avons agité l'urine à trois reprises avec du chloroforme dans une boule à décantation.

Les liqueurs chloroformiques réunies ont été mises à évaporer au bain-marie, mais ne nous ont pas donné un résidu alcaloïdique suffisamment pur pour en permettre la caractérisation immédiate. Aussi, avons-nous purifié ce résidu en le reprenant par 20 centimètres cubes d'acide chlorhydrique au 1/20 et en extrayant à nouveau par le chloroforme en milieu légèrement ammoniacal.

Après filtration, nous avons fait évaporer le chloroforme par quantités égales, sur trois verres de montre. Les résidus se présentaient sous la forme de stries concentriques et nous ont permis d'identifier la strychnine par le réactif de Bouchar-dat, le réactif de Mandelin et par le réactif au bichromate de potassium sulfurique.

IV. Recherche des Ptomaines dans l' « éther de pétrole » de la méthode STAS-OTTO-OGIER

Nous avons expérimenté sur l'« éther de pétrole » de la méthode STAS-OTTO-OGIER provenant du traitement par cette méthode de 800 gr. d'échantillon moyen de viscères humains putréfiés.

Cet éther de pétrole était fortement coloré. Après huit jours de repos, nous l'avons filtré pour séparer les impuretés qui avaient précipité.

Nous l'avons mis à évaporer, par quantités égales, sur trois verres de montre, et les résidus ont été traités comme suit :

1° Au résidu du premier verre de montre on a ajouté quelques gouttes de solution diluée de chlorure de fer III, puis un cristal de ferricyanure de potassium. Nous avons obtenu un bleuissement instantané.

2° Le résidu d'évaporation du second verre de montre a été repris par un centimètre cube d'acide nitrique et évaporé au bain-marie. On a recommencé une seconde fois cette opération, et on a obtenu une coloration jaune d'or qui, par addition de quelques gouttes de KOH alcoolique, est passée à l'orange. Après évaporation au bain-marie, la coloration est passée au rouge sang.

3° Le troisième résidu d'évaporation a été traité par quelques centimètres cubes de ClH au 1/20. Après filtration, on a évaporé, par quantités égales, sur deux verres de montre. Nous avons obtenu des stries concentriques d'un aspect comparable à celui obtenu par l'évaporation d'une solution de sel d'alcaloïde. Sur l'un de ces verres de montre, nous avons fait réagir le réactif de BOUCHARDAT et, sur l'autre, le réactif de MEYER. Mais, dans aucun cas, nous n'avons obtenu de précipité.

Or, si les ptomaines réduisent le mélange chlorure ferrique et ferricyanure de potassium, et si elles donnent avec l'acide

nitrique et la potasse alcoolique la réaction que nous avons obtenue, on sait aussi que ces substances sont précipitées par les réactifs généraux des alcaloïdes. Donc, l'éther de pétrole ne contient pas de ptomaïnes, mais probablement des substances neutres jouissant de propriétés voisines.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

A la fin de chaque chapitre, nous avons exposé, à propos des diverses parties de ce travail, les conclusions détaillées qui s'imposaient. Nous résumons donc ici, très brièvement, les résultats acquis.

I. — L'acide métaphosphorique peut être employé comme agent déféquant dans la recherche toxicologique des poisons organiques parce que :

- a) il ne précipite pas les principaux alcaloïdes ou glucosides ;
- b) il ne donne pas non plus de précipité avec les réactifs généraux des alcaloïdes ;
- c) en sa présence, l'action des réactifs généraux sur les alcaloïdes n'est pas modifiée ;
- d) il ne passe pas en solution dans les solvants organiques servant à extraire l'alcaloïde ou à le purifier, exception faite toutefois de l'alcool amylique ;
- e) en sa présence et en milieu acide, les alcaloïdes ne passent ni dans l'éther, ni dans l'éther de pétrole, ni dans la benzine, de sorte que l'on peut agiter directement la solution aqueuse métaphosphorique d'alcaloïde avec ces solvants en vue de la purification. Mais, dans les mêmes conditions, les alcaloïdes passent dans le chloroforme et l'alcool amylique ;
- f) cette exception est d'autant plus regrettable pour l'alcool amylique que ce corps s'est révélé excellent dissolvant des ptomaïnes en milieu acide et qu'il aurait constitué un agent de purification de grande valeur.

II. — La défécation par l'acide métaphosphorique nous a donné de bons résultats dans la recherche d'un alcaloïde dans

des viscères frais et dans des viscères putréfiés, mais d'exhumation récente. Elle ne nous paraît pas pouvoir s'appliquer à des viscères très putréfiés et conservés depuis longtemps dans l'alcool.

Cette méthode nous a également donné satisfaction quant à la recherche du véronal et d'un alcaloïde dans le sang.

III. — Au sujet de la recherche toxicologique du safran, nous avons montré que sa matière colorante de dédoublait en crocétine sous l'influence de l'acide tartrique à chaud, c'est-à-dire dans les conditions du premier stade de la méthode d'OGIER.

Nous avons tenté la défécation métaphosphorique dans la recherche du safran dans des viscères, mais avons abouti à un échec.

Nous avons alors appliqué la méthode de STAS-OTTO-OGIER avec succès et avons pu déceler la crocétine dans le résidu d'évaporation de l'« *éther acide* ».

IV. — La recherche et l'extraction de faibles quantités de strychnine dans l'urine ne nous paraissent pas possibles par une défécation au moyen du chlorure de baryum. Au contraire, le chlorure de plomb donne de bons résultats.

V. — L'éther de pétrole de la méthode STAS-OTTO-OGIER ne renferme pas de ptomaïnes. On y trouve cependant des corps présentant des réactions voisines de celles des ptomaïnes, mais ne donnant rien avec les réactifs généraux des alcaloïdes.

VU ET BON A IMPRIMER :

Nancy, le 15 Mai 1934.

Le Doyen :

M. SEYOT.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Nancy, le 16 Mai 1934.

*Le Recteur de l'Académie de Nancy,
Président du Conseil de l'Université :*
M. BRUNTZ.

